

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**  
**FACULTAD DE MEDICINA**  
**Departamento de Pediatría**



**TESIS DOCTORAL**

**Cromosopatías, mosaicismos de bajo grado y  
heteromorfismos cromosómicos : epidemiología y  
significación clínica**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR  
PRESENTADA POR

**Marta Moreno García**

DIRECTOR:

**Ángel Nogales Espert**

**Madrid, 2015**

1 46946354



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE



5331023900

TA 2471

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**

**FACULTAD DE MEDICINA**

**DEPARTAMENTO DE PEDIATRÍA**



**TESIS DOCTORAL**

**CROMOSOMOPATÍAS, MOSAICISMOS DE BAJO GRADO  
Y HETEROMORFISMOS CROMOSÓMICOS:**

**Epidemiología y significación clínica**

**MARTA MORENO GARCÍA**

**2000**



*A mi marido José Antonio y a nuestro hijo Sergio por su  
apoyo y cariño.*

Quiero expresar mi agradecimiento a:

El Dr. Angel Nogales por haber aceptado dirigir esta tesis doctoral, a pesar de sus muchas ocupaciones y obligaciones. Por su disponibilidad, sus correcciones y sus consejos en la realización de este trabajo.

La Dra. Emilia Barreiro por haberme permitido formarme con ella y por su apoyo. Su entusiasmo por la citogenética, su buen hacer, su simpatía y cordialidad hacen de ella una gran profesional y una persona extraordinaria.

Javier Fernández por ayudarme con sus conocimientos en informática, que tan necesarios han sido en la realización de esta tesis doctoral. A M<sup>a</sup> José Gómez, Marisa Martín y Ana Moreno por haberme enseñado citogenética con su experiencia y sus consejos. Y a Belén Gil por estar siempre dispuesta a ayudar y por su buen humor.

Beatriz Azqueta por haberme enseñado citogenética y por su ayuda. Ella ha realizado el estudio al microscopio de la mayor parte de los cariotipos revisados en este trabajo, es una inmejorable profesional y una excelente persona.

Rosa Rodríguez, Isabel Padilla, Margarita López, Juliana García, M<sup>a</sup> José González y Francisca Flechoso, por su cordialidad, por su esmero por el trabajo bien hecho y su responsabilidad. Sin ellas esta tesis no podría haberse realizado.

Carmen Escudero por su ayuda, su eficiencia en el trabajo y su simpatía.

Quiero extender mi agradecimiento a todas las personas que formaron parte del Servicio de Genética del Hospital 12 de Octubre y que actualmente no están en él, y a todas aquellas que de un modo u otro han colaborado en la realización de esta tesis.

<b>INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
<b>I- Cariotipo humano normal .....</b>	<b>2</b>
A- Cromosomas humanos .....	2
B- Variaciones de la normalidad: heteromorfismos .....	3
<b>II- Anomalías cromosómicas .....</b>	<b>5</b>
A- Anomalías numéricas.....	5
1- Alteraciones euploides: .....	5
2- Alteraciones aneuploides: .....	6
B- Anomalías estructurales .....	8
1- Reordenamientos equilibrados: .....	8
2- Reordenamientos desequilibrados .....	11
3- Anomalías estructurales ocultas .....	13
C- Cromosomas marcadores .....	14
D- Mosaicos .....	15
E- Trastornos mendelianos con efectos citogenéticos .....	16
1- Síndrome del X frágil .....	16
2- Anemia de Fanconi .....	17
<b>III- Síndromes cromosómicos .....</b>	<b>17</b>
A- Síndromes con anomalías en cromosomas autosómicos .....	17
B- Síndromes con anomalías en cromosomas sexuales .....	19
C- Síndromes de microdelección .....	27
<b>IV- Frecuencia de cromosomopatías en algunas patologías .....</b>	<b>33</b>
A- Retraso mental .....	33
B- Malformaciones congénitas .....	34
C- Alteraciones en el desarrollo y diferenciación sexual .....	35
D- Abortos espontáneos .....	35
E- Esterilidad .....	36
<b>V- Edad de diagnóstico de las cromosomopatías .....</b>	<b>37</b>
<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>39</b>

<b>PACIENTES Y MÉTODOS.....</b>	<b>42</b>
<b>I- Pacientes .....</b>	<b>43</b>
A- Características de los pacientes.....	43
B- Grupos de pacientes.....	43
<b>II- Soporte informático de los datos .....</b>	<b>44</b>
<b>III- Métodos estadísticos .....</b>	<b>44</b>
<b>IV- Métodos citogenéticos.....</b>	<b>45</b>
A- Recogida de la muestra .....	45
B- Cultivo .....	45
C- Obtención de extensiones .....	47
D- Técnicas de identificación cromosómica .....	47
E- Estudio al microscopio de campo claro .....	48
F- Fotografiado .....	49
<b>V- Métodos de citogenética molecular: FISH .....</b>	<b>50</b>
A- Sondas empleadas .....	50
B- Técnica .....	51
C- Observación al microscopio de fluorescencia .....	53
D- Fotografiado .....	54
<b>RESULTADOS .....</b>	<b>55</b>
<b>I- Frecuencia de anomalías cromosómicas .....</b>	<b>56</b>
A- Edad de diagnóstico de las cromosomopatías .....	57
B- Anomalías cromosómicas diagnosticadas en niños .....	58
C- Anomalías cromosómicas diagnosticadas en adultos .....	59
D- Cromosomas.....	59
E- Anomalías cromosómicas balanceadas y no balanceadas.....	60
F- Anomalías cromosómicas numéricas y estructurales .....	62
1- Anomalías numéricas .....	63
2- Anomalías estructurales .....	67
G- Síndromes cromosómicos .....	75

1- Síndrome de Down .....	75
2- Trisomías 13 y 18 .....	75
3- Síndrome de Turner .....	76
4- Síndrome de Klinefelter .....	77
5- Edad de diagnóstico .....	77
6- Relación de sexos .....	78
H- Mosaicismos .....	80
1- Mosaicismos en las anomalías numéricas y estructurales .....	80
2- Mosaicismos en los síndromes cromosómicos .....	80
<b>II- Cromosomopatías y alteraciones clínicas .....</b>	<b>82</b>
A- Cromosomopatías en individuos con fenotipo normal .....	82
B- Cromosomopatías en pacientes con alteraciones en el fenotipo .....	83
1- Retraso mental .....	88
2- Rasgos fenotípicos .....	88
3- Cardiopatía .....	90
4- Anomalías renales .....	90
5- Anomalías en el aparato digestivo .....	90
6- Alteraciones pulmonares .....	90
7- Anomalías oculares .....	91
8- Anomalías en piel .....	91
9- Alteraciones en el sistema nervioso central .....	91
10- Convulsiones .....	91
11- Microcefalia .....	91
12- Macrocefalia .....	92
13- Anomalías esqueléticas .....	92
14- Polidactilia .....	92
15- Sindactilia .....	92
16- Paladar hendido y/o labio leporino .....	92
17- Hiperlaxitud articular .....	94
18- Artrogriposis .....	94
19- Talla baja .....	94

20- Talla alta .....	96
21- Edema en el dorso del pie al nacimiento .....	96
22- Amenorrea .....	96
23- Anomalías en genitales femeninos .....	98
24- Criptorquidia .....	98
25- Hipospadias y/o epispadias .....	99
26- Otras anomalías en genitales masculinos .....	99
27- Ginecomastia .....	99
28- Azoospermia .....	100
29- Oligospermia .....	100
30- Pubertad retrasada .....	100
31- Pubertad precoz .....	100
32- Genitales ambiguos (intersexos) .....	100
33- Inversión del sexo .....	101
34- Tumores .....	101
C- Cromosomopatías en parejas con abortos de repetición .....	101
<b>III- Mosaicismos de bajo grado</b> .....	103
A- Mosaicismo con línea patológica en porcentaje bajo.....	103
B- Mosaicismos ocultos en pacientes con síndrome de Turner.....	104
<b>IV- Heteromorfismos cromosómicos</b> .....	105
A- Frecuencia de heteromorfismos cromosómicos .....	105
1- Heteromorfismo en pacientes con cromosomopatías .....	105
2- Heteromorfismo en pacientes con alteraciones fenotípicas .....	106
3- Heteromorfismos en pacientes con alteraciones en la fertilidad .....	107
4- Heteromorfismo en familiares de pacientes con cromosomopatías .....	108
B- Frecuencias de los diferentes tipos de heteromorfismo cromosómicos .....	108
<b>DISCUSIÓN</b> .....	113
<b>I- Frecuencia de las cromosomopatías</b> .....	114
A- En la población general .....	114
B- En población referida para estudio cromosómico .....	114

C- Frecuencia de cromosomopatías numéricas y estructurales .....	115
1- cromosomopatías numéricas .....	117
2- cromosomopatías estructurales .....	121
<b>II- Cromosomopatías y alteraciones clínicas .....</b>	<b>124</b>
A- Cromosomopatías en individuos con fenotipo normal .....	124
B- Cromosomopatías en las alteraciones fenotípicas .....	125
1- Retraso mental .....	126
2- Rasgos fenotípicos .....	129
3- Malformaciones congénitas .....	130
4- Talla baja .....	136
5- Talla alta .....	137
6- Amenorrea .....	137
7- Ginecomastia .....	138
8- Edema del dorso del pie al nacimiento .....	139
9- Convulsiones .....	139
10- Azoospermia y oligospermia .....	140
11- Abortos de repetición .....	141
<b>III- Mosaicismos con bajo nivel de línea patológica .....</b>	<b>143</b>
A- Alteraciones fenotípicas .....	144
B- Alteraciones en la fertilidad (esterilidad y abortos de repetición) .....	145
C- Anomalías cromosómicas en la descendencia .....	146
D- Mosaicismos ocultos en pacientes con síndrome de Turner .....	149
<b>IV- Heteromorfismos cromosómicos .....</b>	<b>151</b>
A- Neoplasias .....	151
B- Alteraciones fenotípicas .....	152
C- Abortos de repetición .....	153
D- Riesgo de alteraciones cromosómicas en la descendencia .....	154
<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>155</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>159</b>

# **Introducción**



El cariotipo de cada individuo se determina durante la fertilización o en las primeras divisiones mitóticas después de la fecundación. La existencia de anomalías cromosómicas puede alterar el desarrollo intrauterino, conduciendo a abortos espontáneos, malformaciones congénitas y retraso mental. En conjunto, las anomalías cromosómicas son más frecuentes que todas las enfermedades hereditarias monogénicas juntas. Existen alteraciones cromosómicas en aproximadamente el 0,7-0,8 % de los recién nacidos vivos<sup>1,2</sup>, en el 5% de las muertes perinatales<sup>3</sup> y en el 50% de los abortos espontáneos del primer trimestre<sup>1</sup>.

## **I- CARIOTIPO HUMANO NORMAL**

### **A- Cromosomas humanos**

Todas las células somáticas humanas poseen 46 cromosomas repartidos en 23 pares, 22 pares de cromosomas autosómicos y un par de cromosomas sexuales.

Los cromosomas constan de dos cromátides que se unen en el centrómero. En función de la localización del centrómero, los cromosomas humanos se clasifican en: metacéntricos, submetacéntricos y acrocéntricos<sup>1</sup>.

Los cromosomas están formados por un complejo de ADN y proteínas que se denomina cromatina. Existen dos tipos de cromatina: eucromatina y heterocromatina. En la eucromatina se encuentran los genes y de ella está formada la mayor parte del cromosoma. La heterocromatina no contiene genes y está situada en las regiones centroméricas de todos los cromosomas, en los brazos cortos de los cromosomas acrocéntricos y en la región distal del brazo largo del cromosoma Y.

Los cromosomas se estudian al microscopio en las etapas de metafase o prometafase de la mitosis. Se emplean para ello diversos procedimientos de tinción, el más utilizado es el bandeo GTG, que produce un patrón de bandas característico de cada cromosoma. Las bandas GTG oscuras contienen pocos genes y las claras un número mayor de ellos<sup>1</sup>. Un cariotipo rutinario en metafase tiene unas 400 bandas en un conjunto haploide. Con bandeo de alta resolución (en etapas de profase o prometafase) los cromosomas humanos tienen entre 550 y 850 bandas<sup>1,4</sup>.

## **B- Variantes de la normalidad: heteromorfismos**

La heterocromatina presenta variaciones entre individuos que se conocen como heteromorfismos de la heterocromatina. Las diferencias pueden ser de tamaño, de posición o de características de tinción.

**1) Localización:** Hay tres categorías mayores de regiones variables:

a) Las regiones de heterocromatina adyacentes a los centrómeros de todos los cromosomas: las más frecuentes son las variaciones de tamaño de la heterocromatina centromérica de los cromosomas 1, 9 y 16, que habitualmente presentan bloques de heterocromatina de mayor tamaño que el resto de los cromosomas. En ocasiones, la heterocromatina se encuentra parcial o completamente invertida hacia el brazo corto, es un heteromorfismo frecuente en el cromosoma 9 y menos habitual en el cromosoma 1.

Ocasionalmente grandes bloques de heterocromatina aparecen en el centrómero de otros cromosomas distintos del 1, 9 y 16. Se han publicado varios casos de estos heteromorfismos sin repercusión fenotípica<sup>5,6,7,8</sup>.

b) Las regiones satélite y brazos cortos de los cromosomas acrocéntricos: en estas regiones encontramos 3 zonas: la heterocromatina del brazo corto, los satélites y los tallos. Estos últimos contienen genes que codifican el RNA ribosomal y se tiñen con tinciones de plata, esta región se llaman también NOR (*nucleolar organizer regions*). Cada una de las tres zonas puede variar en tamaño e intensidad de tinción. En raras ocasiones los satélites aparecen con dobles estructuras en tándem.

c) La región distal del brazo largo del cromosoma Y: formada por una zona de heterocromatina cuyo tamaño varía mucho de unos individuos a otros<sup>4</sup>.

**2) Tinciones utilizadas en el estudio de los heteromorfismos heterocromáticos:**

- Bandas C: con esta técnica se visualizan teñidas de oscuro las regiones de heterocromatina centromérica, fundamentalmente en los cromosomas 1, 9 y 16, las regiones satélites de los cromosomas acrocéntricos y la heterocromatina de la región distal del brazo largo del cromosoma Y.

- Tinción de quinacrina: con ella puede observarse una variabilidad en la intensidad de la fluorescencia de las regiones centroméricas de los cromosomas 3 y 4, los brazos cortos de los cromosomas acrocéntricos y el brazo largo del cromosoma Y. En estas regiones se pueden observar heteromorfismos de intensidad de fluorescencia.

- Técnica de tinción Ag-NOR (*nucleolar organizer regions*). Las regiones NOR contienen los genes para el rRNA 18S y 28S y se encuentran localizadas en los brazos cortos de los cromosomas acrocéntricos. Es una tinción de plata que tiñe sólo las regiones NOR que estuviesen activas en el ciclo previo. Los heteromorfismos se visualizan como variaciones de tamaño de la región teñida.

- Tinción DA/DAPI (Distamicina A/4',6-diamino-2-fenilindol): produce bandas en las que existe una fluorescencia especialmente intensa en las regiones paracentroméricas de los cromosomas 1, 9 y 16, el brazo corto proximal del cromosoma 15 y la región distal del brazo largo del cromosoma Y.

### **3) Significación de los heteromorfismos**

El significado biológico y clínico de los heteromorfismos no es bien conocido. Se piensa que estas variaciones son diferencias individuales en la naturaleza y número de copias de secuencias de ADN transcripcionalmente inactivas, ya que el ADN de la heterocromatina no contiene genes.

Los heteromorfismos de los cromosomas 1, 9, 16 e Y se hallan ampliamente distribuidos en la población y se considera que no tienen repercusión fenotípica. Sin embargo, varios autores han encontrado una mayor incidencia de neoplasias en sujetos con heteromorfismos cromosómicos. Así, se ha visto en enfermedades malignas hematológicas,<sup>9</sup> tanto en estados preleucémicos,<sup>10</sup> como en leucemias agudas,<sup>11,12,13</sup> en leucemias crónicas,<sup>14,15,16</sup> linfoma no Hodgkin<sup>17</sup> y en mieloma.<sup>18</sup> También se ha encontrado mayor frecuencia de heteromorfismos cromosómicos en otras neoplasias como cánceres orales,<sup>19</sup> de ovario,<sup>20</sup> de mama,<sup>20</sup> próstata,<sup>21</sup> tumores colorectales,<sup>22</sup> etc. Otros estudios no han encontrado asociación entre la incidencia de heteromorfismos cromosómicos y diversas neoplasias como cáncer de pulmón,<sup>23</sup> linfomas no Hodgkin,<sup>24</sup> y en cáncer de ovario y mama.<sup>25</sup> Algunos autores han observado que la cuantificación de regiones Ag-Nor en células en interfase es un factor pronóstico en varios tipos de cáncer.<sup>26</sup>

Aunque algunos trabajos antiguos encontraron una mayor frecuencia de variantes en las regiones NOR de los cromosomas acrocéntricos en padres de pacientes con síndrome de Down, estudios posteriores no lo han confirmado, encontrando similares incidencias de heteromorfismos de las regiones NOR en padres de individuos con síndromes de Down que en controles.<sup>27,28</sup>

## **II- ANOMALÍAS CROMOSÓMICAS**

Las cromosomopatías se producen por alteraciones en el número de cromosomas (anomalías numéricas) o por alteración en su estructura (anomalías estructurales). La mayoría de las concepciones cromosómicamente anormales no son viables y terminan en abortos espontáneos. La pérdida de material cromosómico es, en general, peor tolerada que la ganancia. La pérdida o ganancia de determinadas regiones cromosómicas es más deletérea que la de otras.<sup>4</sup>

Nielsen et al.<sup>2</sup> entre 34910 recién nacidos encontraron una incidencia de cromosomopatías de 1/118, siendo la incidencia de las anomalías numéricas de 1/197 y la de las estructurales de 1/239. Las alteraciones en los cromosomas autosómicos (1/164) fueron más frecuentes que las de los cromosomas sexuales (1/426).

### **A- Anomalías numéricas**

El complemento cromosómico humano es diploide. Cuando un cariotipo presenta un número de cromosomas diferente al normal se dice que es heteroploide. Si es múltiplo del número haploide de cromosomas se denomina euploide; si no es múltiplo, aneuploide.

#### **1) Alteraciones euploides:**

Las más frecuentes son la triploidía (69 cromosomas) y la tetraploidía (92 cromosomas). La mayoría de estas concepciones acaban en abortos espontáneos. Un 16% de los abortos espontáneos cromosómicamente anormales presentan triploidía y un 6% tetraploidía.<sup>1</sup> En raras ocasiones las triploidías se han visto en nacidos vivos, pero con una supervivencia muy corta.

Las células germinales masculinas y femeninas provienen de células primordiales a través de una serie de divisiones. Errores en estas divisiones celulares pueden conducir a espermatozoides o a ovocitos con una dotación diploide de cromosomas. La concepción con estos gametos dará lugar a cigotos triploides. Estos también pueden originarse por la fecundación de un ovocito simultáneamente por dos espermatozoides. Las triploidías no pueden ocurrir como errores mitóticos después de la fecundación, sin embargo en raras ocasiones se han visto casos de triploidías en mosaico que podrían ser resultado de quimeras (un embrión formado por dos eventos de fertilización diferentes), o resultado de la intervención retrasada de un corpúsculo polar o un segundo espermatozoide haploide después de una primera división mitótica. Las tetraploidías ocurren casi siempre como consecuencia de errores mitóticos postcigóticos.

## **2) Alteraciones aneuploides:**

Las aneuploidías más frecuentes son las trisomías y las monosomías.

Las aneuploidías son una causa común de abortos espontáneos.<sup>29</sup> En ellos la anomalía cromosómica más frecuente es la monosomía del cromosoma X (síndrome de Turner) que aparece en el 20% de los abortos espontáneos cromosómicamente anormales. Las monosomías de los cromosomas autosómicos son muy infrecuentes, observándose en menos del 1% de los casos. Las trisomías autosómicas existen en alrededor del 50% de los abortos espontáneos con cromosomopatías, siendo la más frecuente la trisomía 16 (16%); le siguen las trisomías 21, 22 y 18, con una incidencia cada una de ellas de en torno al 5%; el resto de las trisomías aparecen con menor frecuencia.<sup>1</sup>

Las monosomías de un cromosoma completo casi siempre son incompatibles con la vida, con la excepción de la monosomía para el cromosoma X. Las monosomías de los cromosomas autosómicos cuando están presentes en forma de mosaico pueden ser viables.<sup>30</sup>

Las trisomías de los cromosomas autosómicos son en su mayoría letales, sólo las trisomías 13, 18 y 21 son viables. El resto de las trisomías autosómicas no lo son, salvo algunos casos excepcionales publicados,<sup>31,32,33,34,35</sup> y cuando están en mosaico.<sup>36,37</sup> Las trisomías, y también las tetrasomías y pentasomías, que afectan a los cromosomas sexuales (X e Y) son compatibles con la vida.<sup>1</sup>

En nacidos vivos Nielsen et al.<sup>2</sup>, estudiando 34910 neonatos, encontraron una incidencia de anomalías numéricas de 1/197, siendo la incidencia de las aneuploidías de los cromosomas autosómicos de 1/359 y la de los cromosomas sexuales de 1/436. La autosomopatía numérica más frecuente fue la trisomía 21 (1/592), seguida de la trisomía 18 (1/3491) y la trisomía 13 (1/11637). La gonosomopatía numérica más frecuente fue la presencia de un cromosoma X extra en varones (1/1126 recién nacidos, 1/576 varones) seguida de un cromosoma Y extra (1/1586 nacidos vivos, 1/812 varones), la trisomía X (1/1939 nacidos vivos, 1/947 niñas) y la monosomía X (1/3878 nacidos vivos, 1/1893 niñas).

Las aneuploidías se producen por errores en las divisiones celulares, meiosis o mitosis. Cuando las alteraciones cromosómicas ocurren en las células germinales pueden dar lugar a gestaciones con aberraciones cromosómicas. Si la no disyunción ocurre en alguna de las mitosis de las primeras etapas del desarrollo embrionario aparecerán anomalías numéricas en mosaico. En el esperma de varones sanos, con cariotipo somático normal, existe un promedio de células con alteraciones cromosómicas numéricas de 1-4%, con variaciones de unos individuos a otros

entre cifras de 1,4% y 17%<sup>38</sup>. El promedio de espermatozoides hipohaploides está en torno al 3% y el de hiperhaploides alrededor del 1,5%.<sup>39</sup> La obtención de células germinales femeninas para realizar estudios es más difícil, pero se ha visto que el 8-14% de los oocitos extraídos para fecundación in vitro tienen aneuploidías.<sup>38</sup>

La mayor parte de las aneuploidías de los cromosomas autosómicos son de origen materno, principalmente se producen por errores durante la meiosis I de la ovogénesis. La trisomía 18 es la única que se produce debido fundamentalmente a errores en la meiosis II materna. La trisomía 16 es casi exclusivamente de origen materno, mientras que las trisomías de los cromosomas acrocéntricos y del cromosoma 18 son de origen paterno en un 5-15% de los casos.<sup>39,40</sup> Las no disyunciones postcigóticas (mitóticas) constituyen el 5-15% de los casos en las trisomías 15, 18 y 21.<sup>41</sup>

En cuanto a las aneuploidías que involucran a los cromosomas sexuales, mientras en los casos de triplo X (47,XXX) el cromosoma X extra es en el 95% de los casos de origen materno, en el síndrome de Klinefelter es de origen paterno en alrededor de la mitad de las ocasiones;<sup>42,43</sup> en síndrome de Turner 45,X el cromosoma ausente es de origen paterno en el 75%-85% de los casos<sup>44,126</sup> y en todas las concepciones 47,XYY la no disyunción es de origen paterno.<sup>39</sup> La baja contribución de la no disyunción paterna a las concepciones trisómicas autosómicas contrasta con lo que ocurre en el caso de los cromosomas sexuales, esto podría ser debido a la mayor dificultad para el emparejamiento y disyunción entre los cromosomas X e Y como consecuencia de su incompleta homología.<sup>43</sup> Así, Martin et al.<sup>45</sup>, en un estudio con espermatozoides de varones sanos, encuentra una frecuencia significativamente aumentada de hiperhaploidías de los cromosomas sexuales en relación con la incidencia de hipohaploidías e hiperhaploidías de los cromosomas autosómicos.

En las concepciones aneuploides se ha visto que existe un importante efecto de la edad materna, que es mínimo para los cromosomas de gran tamaño (grupos A y B) y mayor para cromosomas más pequeños.<sup>29</sup> Se discute sobre si existe un efecto de la edad paterna. Algunos estudios apoyan la existencia de este efecto; así, en células germinales masculinas se ha observado un mayor número de espermatozoides con aneuploidías de los cromosomas sexuales en individuos de mayor edad;<sup>46,47</sup> y autores como Lorda et al.<sup>43</sup> han encontrado un aumento significativo de la edad paterna en los síndromes de Klinefelter de origen paterno. Sin embargo, otros estudios no lo confirman. Así, Carothers et al.<sup>48</sup> entre 150 pacientes con cariotipo 47,XXY no encontraron un incremento de la edad paterna independiente del de la edad materna; y Hatch

et al.<sup>49</sup> en abortos espontáneos trisómicos no encontraron ninguna relación entre concepción trisómica y edad paterna. En cualquier caso, de existir, el efecto de la edad paterna sería menor que el de la materna.<sup>50</sup>

## **B- Anomalías estructurales**

Se producen como resultado de roturas cromosómicas que pueden estar seguidas de un reordenamiento anormal.

Las anomalías estructurales se clasifican en equilibradas o balanceadas (si no existe pérdida ni ganancia de material genético) y desequilibrada o no balanceadas (si existe pérdida y/o ganancia del mismo).

Las cromosomopatías estructurales están presentes en el 4% de los embarazos cromosómicamente anormales.<sup>1</sup> En nacidos vivos, Nielsen et al.<sup>2</sup>, entre 34910 neonatos, encuentra una incidencia de alteraciones cromosómicas estructurales de 1/239, siendo mucho más frecuentes las que afectaban a los cromosomas autosómicos (1/249) que las de los cromosomas sexuales (1/5818). La incidencia de anomalías estructurales equilibradas fue de 1/335 y la de las desequilibradas de 1/997.

Las anomalías cromosómicas estructurales pueden ser heredadas de alguno de los dos progenitores o bien aparecer *de novo* en un individuo. Algunas de estas alteraciones *de novo* son debidas a la existencia en células germinales de un progenitor de anomalías cromosómicas estructurales que conducen a gestaciones con aberraciones cromosómicas. En estudios realizados con amplias series de donantes varones sanos se ha visto que la incidencia de espermatozoides portadores de anomalías cromosómicas estructurales es de 4-9%.<sup>39, 45</sup>

### **1) Reordenamientos equilibrados:**

Nielsen et al.<sup>2</sup>, entre 34910 recién nacidos, encuentran una incidencia de anomalías cromosómicas equilibradas de 1/335, siendo las más frecuentes las translocaciones recíprocas (1/712), seguidas de las translocaciones robertsonianas (1/811) e inversiones (1/2909). En muchas ocasiones, estas alteraciones son heredadas de alguno de los progenitores, la incidencia de reordenamientos cromosómicos balanceados *de novo* es más baja. Warburton<sup>51</sup>, revisando 377.357 casos publicados de amniocentesis, obtiene una incidencia aproximada de translocaciones recíprocas *de novo* de 1/2000, de translocaciones robertsonianas *de novo* de 1/9000 y de inversiones *de novo* de 1/10000.

Los reordenamientos estructurales equilibrados en la mayoría de los casos no se acompañan de repercusión fenotípica, ya que toda la información genética está completa. La frecuencia con la que se han observado alteraciones clínicas en individuos portadores de alteraciones cromosómicas balanceadas varía de unas publicaciones a otras. Es importante conocer el riesgo que supone el ser portador de estos reordenamientos equilibrados a la hora de realizar un consejo genético, fundamentalmente en el caso de que el asesoramiento se realice en un diagnóstico prenatal. El problema mayor es establecer el riesgo cuando la anomalía cromosómica es *de novo*. La mayor parte de los estudios publicados se han realizado en series de pacientes a los que se les hizo cariotipo por presentar alguna alteración clínica. Por tanto, estos datos no pueden ser extrapolados a la población general. Mucho más fiables son los datos obtenidos a partir de los cariotipos realizados en diagnóstico prenatal, aunque éstos presentan el inconveniente de la cuestionable seguridad del diagnóstico clínico en los casos en los que el embarazo fue interrumpido. Warburton<sup>51</sup> observó que el 6,7% de los recién nacidos portadores de anomalías cromosómicas balanceadas *de novo*, diagnosticadas intraútero mediante amniocentesis, presentaban anomalías congénitas y/o retraso mental. Este riesgo era de 6,1% (n=163) para el caso de las translocaciones recíprocas, de 3,7% para las translocaciones robertsonianas (n=51) y de 9,4% para las inversiones (n=32).<sup>51</sup> Sin embargo, el riesgo puede estar subestimado, ya que los porcentajes podrían aumentar si se hiciese un seguimiento de los recién nacidos durante un período largo de tiempo;<sup>52</sup> aunque, es probable que el error en el cálculo de los riesgos sea pequeño, ya que de los casos revisados por Warburton et al.<sup>51</sup>, 77 fueron seguidos durante 1 año de vida y de ellos sólo 1 mostró problemas que no pudieron ser detectados al nacimiento. Si se comparan estos riesgos con el de anomalías congénitas en la población general (2-3%), encontramos que no existe un incremento significativo de riesgo en el caso de las translocaciones robertsonianas, pero en el caso de las translocaciones recíprocas e inversiones aumenta 2-3 veces.<sup>51</sup>

La repercusión fenotípica de los alteraciones cromosómicas equilibradas podría explicarse por la existencia de un desequilibrio (pérdida o duplicación) de un tamaño tan pequeño que no sea observable con las técnicas citogenéticas convencionales. O bien, por concurrir un mosaicismo en otros tejidos con un reordenamiento desbalanceado.<sup>52</sup> En otras ocasiones, la repercusión fenotípica se produce porque el punto de rotura en el cromosoma está situado dentro de un gen, conduciendo a una pérdida de función del mismo; a veces estos reordenamientos



balanceados han ayudado a localizar los genes de varias enfermedades. Por último, podría deberse a la alteración en la función de un gen por un efecto de posición.

Se han publicado varios casos de azoospermia u oligospermia en individuos con translocaciones balanceadas entre autosomas, tanto translocaciones robertsonianas,<sup>53,54,55</sup> como recíprocas<sup>56,57,58,59,60</sup>, probablemente debido a la interferencia de las cromosomopatías en la espermatogénesis.<sup>55</sup>

Cuando los reordenamientos estructurales balanceados no son *de novo*, sino que están presentes también en uno de los dos progenitores, si éste es sano, el riesgo de anomalías congénitas en un hijo portador de la misma anomalía cromosómica es prácticamente igual al de la población general.<sup>61</sup> Aunque no puede descartarse la existencia en el hijo de un reordenamiento más complejo que el del progenitor, no observable con las técnicas citogenéticas convencionales, en el que exista algún tipo de desequilibrio. Tampoco puede descartarse la presencia de un mosaicismo con algún reordenamiento desequilibrado que afecte a otros tejidos y no esté presente en el líquido amniótico o en linfocitos. Otras veces la causa de alteraciones fenotípicas en hijos de portadores sanos de anomalías cromosómicas es la disomía uniparental (DUP), debido a la predisposición en las personas portadoras de alteraciones cromosómicas balanceadas a formar células germinales disómicas por la retención del cromosoma normal junto al translocado.<sup>52</sup> Los genes sometidos al mecanismo de *genomic imprinting* son inactivos en el alelo procedente de uno de los progenitores y activos en el otro. Por ello, para el correcto desarrollo se requiere la contribución del material genético paterno y materno, es decir, una contribución biparental. No siempre la DUP se asocia a patología, pero se sabe que sí lo hace cuando los cromosomas implicados son los dos cromosomas 7 maternos, los 11 paternos, los 14 maternos o paternos, los 15 maternos o paternos<sup>62</sup> y los 16 maternos.<sup>63</sup>

Las personas portadoras de anomalías cromosómicas balanceadas tienen un riesgo alto de descendencia afecta de alteraciones cromosómicas no balanceadas, debido a la formación de gametos desequilibrados. Muchos de los embarazos con desequilibrio cromosómico terminan en abortos espontáneos, por tanto en parejas con dos o más abortos está indicado realizar un cariotipo en sangre periférica para descartar cromosomopatías.

#### **a) Translocaciones**

- **Translocaciones recíprocas:** Son el resultado del intercambio de segmentos entre dos cromosomas no homólogos. Habitualmente sólo son dos los cromosomas implicados en la translocación, pero también existen translocaciones complejas que involucran a tres o más

cromosomas. Nielsen et al.<sup>2</sup> entre 34910 recién nacidos encuentran una incidencia de translocaciones recíprocas de 1/712.

- **Translocaciones robertsonianas:** ocurren por la fusión de dos cromosomas acrocéntricos cerca de la región centromérica, con pérdida de los brazos cortos de ambos. Esta pérdida no tiene ninguna repercusión fenotípica. Nielsen et al.<sup>2</sup> observan una incidencia de translocaciones robertsonianas de 1/811. La más frecuente fue la translocación robertsoniana entre los cromosomas 13 y 14 (34/43) seguida de la translocación entre los cromosomas 14 y 21 (7/43).

- **Inserciones:** Es una translocación no recíproca que consiste en que un fragmento de un cromosoma se incorpora en otro punto distinto del mismo cromosoma o en otro cromosoma. Las inserciones son muy raras ya que son necesarias 3 roturas cromosómicas para que se produzcan. Pueden ser intracromosomales cuando la inserción se produce dentro del mismo cromosoma o intercromosomales cuando la inserción ocurre en otro cromosoma distinto. Las inserciones se clasifican en directas o invertidas dependiendo de la posición que adopte el segmento insertado.<sup>1</sup>

#### b) Inversiones

Se forman cuando en un solo cromosoma se producen dos roturas y el segmento entre las roturas se invierte. Las inversiones pueden ser paracéntricas, cuando las dos roturas están en el mismo brazo del cromosoma o pericéntricas, cuando cada rotura ocurre en un brazo distinto de modo que el segmento invertido incluye al centrómero. Nielsen et al.<sup>2</sup>, entre 34910 recién nacidos, encontraron 13 pacientes con inversiones (1/2685), que en 12 casos involucraban cromosomas autosómicos y en el restante al cromosoma X.

Las inversiones que afectan sólo a la región heterocromática de los cromosomas 1 y 9 son consideradas heteromorfismos.

## 2) Reordenamientos desequilibrados

Las anomalías cromosómicas estructurales no balanceadas se acompañan, en general, de alteraciones clínicas.

La existencia de material genético extra de eucromatina generalmente se asocia a anomalías fenotípicas, pero en raras ocasiones se ha descrito también en individuos sin repercusión clínica. Así, se ha publicado en el cromosoma 1 en las bandas 1p21-p31,<sup>64</sup> y en las sub-bandas 1q42.11 y 1q42.12,<sup>65</sup> en el cromosoma 9 en la banda 9q13<sup>66</sup> y en la banda 9p12,<sup>67</sup> en el cromosoma 13 en las bandas 13q13-q14,<sup>68</sup> en el cromosoma 15 en las bandas 15q11-q13,<sup>69,70</sup>

en el cromosoma 16 en la región proximal del brazo corto,<sup>71,72,73,74</sup> y en el brazo corto del cromosoma 18.<sup>75</sup>

Varias teorías se han barajado para explicar la falta de repercusión fenotípica. Algunos autores piensan que el material de eucromatina duplicado podría contener genes que fuesen insensibles a la dosis o que la expresión de los genes duplicados estuviese alterada debido a un efecto de posición.<sup>64</sup> Otros opinan que podría explicarse por los mecanismos de *genomic imprinting*<sup>65</sup> (los genes estarán activos o inactivos en función del origen paterno o materno de los mismos).<sup>76</sup> Algunos autores creen que estas alteraciones deberían considerarse como heteromorfismos de la eucromatina, pero otros piensan que sería más correcto hablar de duplicaciones de la eucromatina sin efecto fenotípico y que el uso del término heteromorfismo debería limitarse sólo a las variaciones de la heterocromatina.<sup>77</sup>

También se han publicados varios casos de deleciones intersticiales de bandas de eucromatina sin ninguna repercusión fenotípica: 5p14,<sup>78</sup> 13q21<sup>79</sup>, 11p12<sup>80</sup> y 16q21.<sup>81</sup> Todas ellas son deleciones de bandas G oscuras que tienen una menor densidad de genes que las bandas claras. La ausencia de efecto fenotípico puede deberse a que la copia del gen o los genes presentes en el otro cromosoma sean suficientes para el desarrollo de un fenotipo normal.

La mayoría de las veces las anomalías cromosómicas no equilibradas sin repercusión fenotípica que involucran a la eucromatina afectan a bandas G positivas, pero también se han visto en bandas G negativas.<sup>65</sup>

Existen distintos tipos de anomalías cromosómicas no balanceadas:

**a) Deleciones :** Una deleción es la pérdida de un segmento cromosómico debido a una rotura en la cual el fragmento acéntrico se pierde. La deleción puede ser terminal o intersticial. Nielsen et al.<sup>2</sup> entre 34910 recién nacidos encuentran una incidencia de deleciones de 1/5818.

**b) Duplicaciones:** Consisten en la duplicación de un segmento cromosómico. Pueden ser directas o invertidas. Nielsen et al.<sup>2</sup> encuentran una incidencia de duplicaciones de 1/11637 recién nacidos vivos.

**c) Isocromosomas:** Son cromosomas en los que falta uno de los brazos y el otro brazo está duplicado. Nielsen et al.<sup>2</sup> observaron un solo caso entre 34910 recién nacidos.

**d) Cromosomas dicéntricos:** Son cromosomas que contienen 2 centrómeros. Cuando un isocromosoma tiene dos centrómeros se denomina isodicéntrico. Los cromosomas dicéntricos tienden a romperse en anafase, salvo que los dos centrómeros se encuentren juntos o que uno de ellos sea inactivo, en este último caso se denominan pseudodicéntricos.

**e) Cromosomas en anillo:** Son cromosomas circulares que se forman debido a deleciones en ambos brazos de un mismo cromosoma y la posterior unión de los dos extremos. Estos cromosomas tienen muchos problemas durante la mitosis, por ello es frecuente encontrar células con anillos de diferentes tamaños, células sin anillo y/o células con dos o más anillos. Nielsen et al.<sup>2</sup> encuentran una incidencia de 1/17455 recién nacidos vivos.

**f) Cromosomas derivados:** Son cromosomas que derivan de un reordenamiento que involucra a dos o más cromosomas. Generalmente afectan a hijos de padres portadores de reordenamientos cromosómicos balanceados. Nielsen et al.<sup>2</sup> encuentran una incidencia de 1/11637 recién nacidos vivos.

**g) Cromosomas recombinantes:** Se forman a partir de cromosomas con un reordenamiento estructural, inserciones o inversiones, en los que aparece una nueva composición segmental resultante de un entrecruzamiento meiótico.<sup>1,4</sup>

### **3) Anomalías estructurales ocultas**

Son alteraciones estructurales no visibles con las técnicas citogenéticas convencionales que actualmente pueden ser diagnosticadas gracias a las técnicas moleculares como la FISH (hibridación *in situ* fluorescente).

Estas anomalías, cuando son desequilibradas, pueden conducir a retrasos mentales y/o anomalías congénitas.<sup>82</sup> Además de los síndromes de microdelección, que comentaremos en otro apartado, los reordenamientos submicroscópicos afectan con frecuencia a las regiones teloméricas. Se piensa que la asociación entre cromosomas no homólogos, que comparten secuencias repetidas asociadas al telómero, podría conducir a un mal emparejamiento y en consecuencia a estos reordenamientos cromosómicos.<sup>83</sup>

Las personas portadoras de reordenamientos estructurales submicroscópicos balanceados están en riesgo de hijos con desbalances cromosómicos. Se ha informado de varios casos de síndrome de Miller-Dieker en los que uno de los progenitores era portador de una translocación submicroscópica balanceada.<sup>84</sup> Deben sospecharse estas alteraciones cromosómicas, principalmente, en los casos en los que existan dos o más hermanos con retraso mental, pero con anomalías asociadas diferentes, que pueden explicarse por el modo de herencia de los reordenamientos cromosómicos.<sup>82</sup> Aproximadamente el 5% de las parejas con abortos de repetición presentan alguna anomalía cromosómica balanceada detectable con técnicas citogenéticas. Por tanto, es probable que algunas de las parejas, en las que no se ha encontrado la causa de los abortos, sean portadoras de reordenamientos balanceados submicroscópicos.<sup>82</sup>

## **C- Cromosomas marcadores**

Este término se aplica a cualquier cromosoma que no pueda ser identificado. Incluye dos tipos:

1- Cromosomas pequeños supernumerarios, que frecuentemente resultan de reordenamientos que involucran a las regiones satélites de los cromosomas acrocéntricos y/o a las regiones centroméricas y que, por ello, generalmente no pueden ser identificados con las técnicas citogenéticas convencionales, requiriendo para su identificación técnicas especiales como la FISH.

2- Cromosomas mayores que no pueden ser identificados con las técnicas de bandeo cromosómico, generalmente debido a que son el resultado de reordenamientos cromosómicos complejos.

La incidencia de cromosomas marcadores supernumerarios es aproximadamente 1/1500.<sup>2</sup> Y la de cromosomas marcadores supernumerarios *de novo* está alrededor de 1/2500.<sup>51</sup>

El riesgo de retraso mental o anomalías congénitas para un niño con un cromosoma marcador es mínimo en el caso de que el marcador esté presente también en alguno de los padres fenotípicamente normales. Sin embargo, el riesgo de que un marcador *de novo* produzca un fenotipo anormal está en torno al 13%.<sup>85</sup>

Lo que determina que un marcador tenga un efecto deletéreo es la presencia en él de eucromatina, pero otros factores como el *imprinting* también podrían estar implicados.<sup>85</sup>

La mayor parte de los cromosomas marcadores derivan de cromosomas acrocéntricos.<sup>85</sup> Uno de los cromosomas marcadores más frecuente es una duplicación invertida de la región proximal del cromosoma 15. Este marcador se ha observado tanto en individuos sanos como en pacientes con anomalías. El tamaño del marcador está en relación con la severidad del fenotipo.<sup>86</sup> Pero, cuando el cromosoma incluye la región de los síndromes de Prader-Willi (SPW) y Angelman (SA) (15q11-q13), que es una región sometida a mecanismo de *genomic imprinting*, el fenotipo no sólo está determinado por la extensión de la región duplicada, sino también por el origen paterno o materno.<sup>87</sup> La región del SPW estará activa en el cromosoma de origen paterno y la del SA en el de origen materno. Es más frecuente que estos marcadores sean de origen materno, si incluyen la región del SA habrá una tetrasomía de la misma. Ocasionalmente son de origen paterno, en estos casos los puntos de rotura suelen ser proximales a la región SPW/SA, si un cromosoma marcador de origen paterno de mayor tamaño incluye la región SPW/SA es letal; este marcador tendría la región del SPW activa y la región del SA inactiva, por tanto, múltiples

copias de la región del SPW activas es probable que sean letales. Además de los loci de los SPW/SA, pueden estar presentes otros loci no sometidos al mecanismo de *genomic imprinting* que también contribuirán al fenotipo de los pacientes.<sup>86</sup>

## **D- Mosaicos**

Una mosaico es la presencia en un mismo individuo de dos o más complementos cromosómicos distintos. Generalmente ocurre con las anomalías numéricas, pero también las anomalías estructurales pueden existir en mosaico.<sup>88</sup> Nielsen et al.<sup>2</sup> entre 34910 recién nacidos encontraron 5 casos de anomalías estructurales en mosaico que involucraban a los cromosomas sexuales y ninguna en los cromosomas autosómicos. Kleczkowska et al.<sup>89</sup>, entre 245 pacientes con translocaciones recíprocas, observan sólo 2 casos en los que la translocación estaba presente en mosaico. Y Hook y Cross<sup>90</sup>, entre 63000 amniocentesis, hallaron 2 casos de translocaciones recíprocas en mosaico y un único caso de translocación robertsoniana en mosaico.

La verdadera incidencia de los mosaicismos es difícil de establecer, ya que la detección de un mosaico depende del tipo de anomalía, del número de células analizadas y de la distribución de los porcentajes de células con la anomalía en los distintos tejidos. Además, un mosaico encontrado en un único cultivo puede representar una anomalía de ese cultivo y no un verdadero mosaico en el individuo. Así, Hsu et al.<sup>91</sup> en 179.663 amniocentesis encuentran 555 translocaciones recíprocas balanceadas, de ellas 13 estaban presentes en forma de mosaico; de los 13 casos se repitieron los estudios en 8, confirmándose el mosaicismo en sólo 3 casos. Y Leegte B et al.<sup>92</sup> revisan los casos publicados de translocaciones recíprocas balanceadas en mosaico detectadas en sangre periférica; de 29 casos, en 12 se estudió una segunda muestra, confirmándose el mosaico en 9 de los 12 pacientes. Por tanto, es importante diferenciar los verdaderos mosaicismos de los pseudomosaicismos en los cuales la anomalía cromosómica se genera en las divisiones celulares que tienen lugar durante el cultivo. Por ello, todas las anomalías cromosómicas en mosaico deberían confirmarse en un segundo cultivo.

La repercusión clínica de los mosaicismos depende del tipo de alteración cromosómica y del número de células que presenten la cromosomopatía. Pero, el grado de mosaicismo en el tejido analizado no siempre representa el porcentaje de células con la anomalía cromosómica que existe en otros tejidos. Así, por ejemplo, Graham et al.<sup>93</sup> informaron de un paciente con rasgos dismórficos, pero inteligencia normal, que presentaba una trisomía 18 en línea única en linfocitos de sangre periférica, sin embargo la trisomía 18 estaba presente en forma de mosaico en

fibroblastos de piel. Y English et al.<sup>94</sup>, en una paciente con diversas anomalías congénitas sin retraso mental cuyo cariotipo en linfocitos de sangre periférica era normal, encontraron una trisomía 12 en mosaico en el 9% y 13% de los fibroblastos procedentes de dos biopsias de piel. Un estudio minucioso posterior en linfocitos de sangre periférica encontró dos células con trisomía 12 entre 500 metafases analizadas.

Los diferentes porcentajes de células con la anomalía cromosómica en los distintos tejidos pueden explicar algunas diferencias de fenotipo entre individuos con el mismo porcentaje de células con cromosomopatía en el cariotipo realizado en linfocitos de sangre periférica. Como ocurrió en los casos publicados por Costa et al.<sup>95</sup> en una pareja de gemelos discordantes en el sexo fenotípico, ambos gemelos tenían un mosaico 45,X/46,XY en los linfocitos de sangre periférica, pero el gemelo con fenotipo femenino tenía un cariotipo 45,X en fibroblastos de piel y tejido gonadal y el gemelo con fenotipo de varón presentaba un cariotipo masculino normal (46,XY) en fibroblastos de biopsias de piel y en tejido conectivo adyacente a los vasos deferentes. Se han publicado más casos de discordancia en sexo fenotípico en gemelos explicables por la diferente proporción del mosaico en los distintos tejidos de cada uno de ellos.<sup>96</sup>

Se ha informado de varios casos de asociación entre anomalías en la pigmentación y aberraciones cromosómicas en mosaico y, también, algunos ejemplos de asociación de éstas con quimerismo.<sup>94,97</sup> Las anomalías pigmentarias son pleomorfas y las alteraciones cromosómicas involucran tanto a los autosomas como a los cromosomas sexuales. Thomas et al.<sup>98</sup> evaluaron 8 pacientes con alteraciones pigmentarias semejantes a la incontinencia *pigmenti* o a la hipomelanosis de Ito, en todos ellos encontraron anomalías cromosómicas en mosaico en linfocitos y/o fibroblastos. En siete de los casos la pigmentación era oscura y las anomalías de pigmentación seguían las líneas de Blaschko. Por tanto, en las alteraciones de la pigmentación, fundamentalmente cuando sigan el patrón de las líneas de Blaschko, debe hacerse un cariotipo para descartar anomalías en mosaico.

## **E- Trastornos mendelianos con efectos citogenéticos**

Son síndromes monogénicos que se acompañan de alteraciones en el estudio citogenético.

### **1) Síndrome del X frágil**

Es una enfermedad que sigue patrones de herencia ligada al cromosoma X y que se caracteriza por retraso mental, rasgos fenotípicos característicos y macrorquidia. En el estudio

citogenético de estos pacientes, bajo condiciones especiales de cultivo, aparece un lugar frágil en el brazo largo del cromosoma X.

## **2) Anemia de Fanconi**

Es una enfermedad autosómica recesiva que se caracteriza por un fallo progresivo de la médula ósea, malformaciones congénitas diversas y riesgo alto de desarrollo de neoplasias.

En el estudio citogenético de estos pacientes es frecuente encontrar aberraciones cromosómicas espontáneas. Las alteraciones cromosómicas son mucho más frecuentes cuando las células han estado expuestas a la acción de agentes clastogénicos como el diepoxibutano, esta característica permite el diagnóstico citogenético de la enfermedad.<sup>99,100</sup>

# **III- SÍNDROMES CROMOSÓMICOS**

## **A- Síndromes con anomalías en cromosomas autosómicos**

Nielsen et al.<sup>2</sup>, entre 34910 recién nacidos, encuentran una incidencia de alteraciones en los autosomas de 1/164. Las anomalías más frecuentes fueron el síndrome de Down (1/592) y las translocaciones recíprocas (1/712).

### **1) Trisomía 21: Síndrome de Down**

El síndrome de Down (SD) es la causa más frecuente de retraso mental. La incidencia en recién nacidos vivos es de 1/600. El riesgo de descendencia afecta de SD aumenta a medida que se incrementa la edad materna.<sup>101</sup> Las tres cuartas partes de las concepciones con SD terminan en abortos espontáneos.<sup>1</sup>

El 95% de los SD presentan en el cariotipo una trisomía primaria del cromosoma 21. El 4% son debidos a translocaciones robertsonianas entre el cromosoma 21 y otro cromosoma acrocéntrico, los más frecuentemente implicados son el 14 y el 22. Alrededor del 1% de los pacientes son mosaicos en los que coexiste una línea normal y una línea trisómica.<sup>1</sup>

En raras ocasiones, los pacientes con SD tienen trisomías parciales del cromosoma 21, ello ha permitido localizar la región crítica del síndrome de Down en 21q22.2-q22.3.<sup>102,103</sup>

Los pacientes con SD muestran un fenotipo característico que hace que se sospeche el diagnóstico generalmente en el momento del nacimiento: hipotonía, braquicefalia con occipucio plano, hipertelorismo, inclinación mongoloide de las fisuras palpebrales, epicanto, manchas de



Brushfield, orejas de implantación baja, cuello corto con piel redundante en la nuca, surco simiesco en las manos. El 40% de los casos presentan cardiopatía.<sup>104</sup> También pueden existir otras anomalías congénitas como atresia duodenal y fistula traqueoesofágica. Tienen un riesgo de leucemia cinco veces mayor que la población general.

## **2) Trisomía 18: síndrome de Edwards**

La incidencia de trisomía 18 en recién nacidos es de 1/3000-1/8000.<sup>2,38,93</sup> El riesgo aumenta con la edad materna; así, el riesgo de un hijo con trisomía 18 en mujeres mayores de 45 años es de 1/289.<sup>38</sup>

El 95% de las concepciones acaban en abortos espontáneos, sólo el 10% de los recién nacidos sobrevive al primer año de vida y un 99% muere antes de los 10 años. Smith et al.<sup>105</sup> publicaron un caso de trisomía 18 completa en una mujer de 21 años.

En el 10% de los pacientes la trisomía 18 está presente en forma de mosaico.<sup>93,106</sup>

El fenotipo característico de los enfermos es: hipertonia, occipucio prominente, micrognatia, orejas bajas, esternón corto, puños con dedos superpuestos, retraso mental, fallo en el crecimiento y malformaciones cardíacas.

## **3) Trisomía 13: síndrome de Patau**

La incidencia de trisomía 13 es de 1/8000-1/15000<sup>1,2,107</sup>

El 75% de los casos son debidos a una no disyunción meiótica y, por tanto, presentan una trisomía primaria del cromosoma 13. El 20% se producen por una malsegregación de una translocación robertsoniana, presente en uno de los progenitores, entre el cromosoma 13 y otro cromosoma acrocéntrico (el más frecuentemente implicado es el cromosoma 14).<sup>1</sup> El 5% son debidos a translocaciones *de novo*. La trisomía 13 en mosaico es poco frecuente, en torno al 5% de los casos, aunque la cifra real probablemente sea mayor ya que algunos son asintomáticos y pueden quedar sin diagnosticar.<sup>108</sup> La trisomía primaria se asocia a edad materna avanzada.

El fenotipo de los pacientes con trisomía 13 consiste en arrinencefalia, holoprosencefalia, frente inclinada e hipertelorismo. Puede existir microftalmía e incluso ausencia de ojo. Presentan frecuentemente labio leporino, paladar hendido, cardiopatía y malformaciones urogenitales. El 50% de los pacientes muere en el primer mes de vida y la mayoría fallece antes del primer año.<sup>1</sup>

## **4) Síndrome 4p-: síndrome de Wolff**

Es debido a una delección parcial del brazo corto del cromosoma 4. Se caracteriza por retraso en el crecimiento, retraso mental profundo, microcefalia, dolicocefalia, coloboma de iris o retina,

orejas rudimentarias, nariz picuda, boca de carpa, paladar hendido, hipospadias, criptorquidia y anomalías cardíacas.<sup>109</sup>

### **5) Síndrome 5p-: Síndrome del maullido de gato**

Se produce por una delección parcial del brazo corto del cromosoma 5. La región crítica del síndrome es la banda 5p15. La mayoría de los casos son esporádicos, pero en un 10-15% de las ocasiones los padres son portadores de anomalías cromosómicas balanceadas. Se han publicado varios casos con cromosoma 5 en anillo.

Los pacientes presentan un llanto característico (debido a atrofia laríngea), retraso en el crecimiento, microcefalia, hipertelorismo, inclinación antimongoloide de las fisuras palpebrales, epicanto, orejas de implantación baja y retraso mental.<sup>1</sup>

## **B- Síndromes con anomalías en cromosomas sexuales**

Las alteraciones en los cromosomas sexuales tienen una repercusión fenotípica menor que las que afectan a los autosomas. Por ello, mientras estas últimas se diagnostican habitualmente en la infancia (salvo los reordenamientos equilibrados), las anomalías en los cromosomas sexuales con frecuencia se diagnostican en la pubertad o incluso en la vida adulta.

Nielsen et al.<sup>2</sup>, entre 34910 recién nacidos, encontraron una incidencia de anomalías en los cromosomas sexuales de 1/426. Las alteraciones más frecuentes fueron el síndrome de Klinefelter con una incidencia de 1/576 varones nacidos vivos, el síndrome doble Y (47,XYY) presente en 1/851 varones, el síndrome de triple X que se observó en 1/947 niñas y el síndrome de Turner en 1/1839 niñas recién nacidas.

### **1) S. de Klinefelter**

El síndrome de Klinefelter (SK) es una anomalía cromosómica muy frecuente que afecta a uno de cada 500 varones, aunque muchos casos quedan sin diagnosticar.<sup>110</sup>

El cariotipo en más de las dos terceras partes de los pacientes presenta en todas las células un cromosoma X extra (47,XXY), en el 15% de los casos existen cariotipos en mosaico<sup>111</sup> y con menor frecuencia más de un cromosoma X extra (48,XXXY ó 49,XXXXY).<sup>114,112</sup> En raras ocasiones se han publicado variantes de síndrome de Klinefelter con anomalías estructurales en el cromosoma X.<sup>113</sup>

El SK se caracteriza por un fallo testicular primario, con niveles elevados de gonadotropinas. Aunque la función endocrina del testículo puede estar disminuida desde la vida intrauterina, con niveles hormonales medidos en sangre de cordón umbilical por debajo de lo

normal, en la vida postnatal y hasta la pubertad la función gonadal es normal, existiendo niveles normales de LH, FSH y testosterona. A los 12-14 años se produce una elevación de los valores de FSH y LH y una meseta en los niveles de testosterona en la mitad baja del rango de normalidad o por debajo.<sup>114</sup> Cuando el fallo testicular ocurre antes de la pubertad, los niveles de testosterona son bajos y los cambios normales de la pubertad no se producen, dando lugar a una constitución eunucoide con una longitud anormal de las piernas y de los brazos, vello facial, axilar, pubiano y corporal escaso o ausente, decrecimiento de la masa muscular con una distribución femenina del tejido adiposo, ginecomastia y pene y testículos pequeños. Existe una amplia variabilidad clínica en relación con el momento y la cuantía de la deficiencia de andrógenos: infertilidad (en el 99-100% de los pacientes), testes pequeños (99-100%), pene pequeño (10-25%), ginecomastia (50-75%), disminución del vello púbico (30-60%), reducción del vello facial (60-80%), disminución de los niveles de testosterona (65-85%), elevación de los niveles de gonadotropinas (90-100%).<sup>114</sup> En cuanto al desarrollo intelectual existe una mayor incidencia de problemas de aprendizaje y son frecuentes resultados escolares pobres. Los pacientes con más de un cromosoma X extra presentan con mayor frecuencia retraso mental. En el SK hay un riesgo aumentado de osteoporosis, diabetes mellitus, enfermedades venosas y procesos autoinmunes.<sup>114</sup> Existe una incidencia de cáncer de mama mayor que en los varones normales y también de tumores de células germinales extragonadales.

Cuando el SK presenta un cariotipo en mosaico la variabilidad clínica es mayor incluso pueden, en raras ocasiones, ser fértiles.<sup>114</sup> Las variantes de SK con anomalías estructurales en el cromosoma X, la mayoría de las veces, se asocian a un fenotipo más severo de lo habitual con varios grados de retraso mental y dismorfismo facial. Estas alteraciones con frecuencia son secundarias a un fallo en la inactivación del cromosoma X que porta la anomalía estructural por ausencia del centro de inactivación localizado en Xq13.

## **2) Síndrome de Turner:**

El síndrome de Turner (ST) es una de las anomalías citogenéticas más frecuentes, su incidencia se estima en 1/2500 niñas nacidas vivas<sup>129</sup>. El diagnóstico se realiza en aproximadamente el 20% de las pacientes durante la niñez, mientras que el resto se diagnostican en la pubertad.<sup>115</sup>

Se considera que una paciente tiene síndrome de Turner cuando en su cariotipo exista una alteración en el cromosoma X y fenotípicamente presente talla baja y fallo ovárico. Se cree que la

haploinsuficiencia de uno o varios genes del cromosoma X, que escapan a la inactivación y que tienen homólogos en el cromosoma Y, es la responsable del ST.<sup>118,116</sup>

El cariotipo más común es la monosomía completa del cromosoma X (45,X), el resto de pacientes presentan una variedad de alteraciones incluyendo mosaicismos. La anomalía estructural más frecuente es un isocromosoma de los brazos largos del cromosoma X,<sup>117</sup> en otras ocasiones existen deleciones del brazo largo, deleciones en el brazo corto, cromosomas marcadores, cromosomas en anillo, isocromosoma de los brazos cortos, translocaciones que involucran al cromosoma X, etc. También se ha descrito fenotipo de ST en individuos con aberraciones en el cromosoma Y.<sup>118</sup> Cuando se estudian con FISH los cromosomas marcadores se ve que pueden derivar tanto del cromosoma X como del cromosoma Y. Así, Patsalis et al.<sup>119</sup> estudiando 12 pacientes afectas de ST con un cromosoma marcador encontraron que en 11 casos el cromosoma marcador derivaba del cromosoma Y.<sup>119</sup>

La frecuencia de las diferentes anomalías cromosómicas varía en las diversas series. En un amplio estudio, con 393 pacientes con ST el cariotipo fue 45,X en el 58% de los casos, monosomía X en mosaico en el 35% y diversas anomalías estructurales del cromosoma X en el 7%.<sup>130</sup> En otro estudio con 478 pacientes se encontró cariotipo 45,X en el 52,1% de las pacientes; mosaico 45,X/46,XX en el 10,9%; mosaico 45,X/47,XXX y otras líneas “super-hembra” en el 4,6%; isocromosomas i(Xq) e i(Xp) en el 16,1%; cromosoma X en anillo en el 4,4%; otras anomalías estructurales del cromosoma X en el 7,7% y mosaico 45,X/46,XY en el 4%.<sup>120</sup> Porcentajes similares encuentra otra amplia serie con 522 pacientes con ST en la que se vio cariotipo 45,X en el 52,1% de las pacientes; el 13,2% presentaban cariotipo en mosaico con una línea celular 45,X y otras líneas celulares sin anomalías estructurales; el 19,9% de las pacientes tenían una línea celular 45,X y otras líneas celulares con anomalías estructurales del cromosoma X y en el 14,8% de los casos se encontró cariotipo con anomalías estructurales del cromosoma X.<sup>121</sup>

Las diferencias en los porcentajes de mosaicos encontrados por los diversos autores varían en función del número de tejidos estudiados. El análisis de un sólo tejido revela mosaicismo en aproximadamente el 30% de los ST, pero si se estudian dos tejidos distintos el porcentaje de mosaicismo aumenta al 65% de los casos.<sup>122</sup> Además, la cantidad de pacientes en las que se detecta un mosaico depende también del número de células analizadas. Así, Fernández et al.<sup>123</sup> estudiando 25 ST con técnicas citogenéticas convencionales, en 9 casos no encontraron mosaicismo; sin embargo, analizando un gran número de metafases con técnica de FISH el

número de pacientes que pasó a no tener mosaico se redujo a dos; analizando un número aún mayor quizá estas dos pacientes pasarían también a ser mosaicos; en la mayoría de los casos el mosaico oculto era una línea 46,XX previamente no detectada. En pacientes con cariotipo 45,X se cree que la presencia de una línea oculta 46,XX conduce a un fenotipo menos severo.<sup>118</sup> El 99% de las concepciones 45,X terminan en abortos espontáneos, la alta mortalidad del cariotipo 45,X hace pensar en que es necesario un mosaicismo para la supervivencia. Algunos autores postulan que quizá todos los ST 45,X vivos son mosaicos, pero que en algunos casos el porcentaje de una de las líneas celulares sería tan bajo que pasaría desapercibida con las técnicas convencionales.<sup>123,124</sup>

En ocasiones, el ST se debe a anomalías en el cromosoma Y, cuando existen cromosomas marcadores éstos pueden ser derivados del cromosoma Y, otras veces existe un mosaico con una línea celular difícil de detectar con técnicas citogenéticas convencionales, por estar en un porcentaje muy bajo, que contiene secuencias de cromosoma Y, bien en forma de células 46,XY o bien en forma de anomalías estructurales. La detección en pacientes con disgenesia gonadal de secuencias de cromosoma Y es importante, ya que si existen estas secuencias el riesgo de aparición de un gonadoblastoma se estima en torno al 15-25%, y por ello, en estos casos está indicado realizar gonadectomía. Patsalis et al.<sup>125</sup>, entre 50 pacientes con ST, utilizando PCR, encontraron secuencias ocultas de Y en el 24% de los casos (12/50); en los ST debidos a anomalías estructurales del cromosoma X no se detectaron secuencias de Y, lo que hace pensar que la anomalía cromosómica se produjo desde un cariotipo 46,XX. En el 100% (6/6) de los pacientes con cromosoma marcador se encontraron secuencias de Y, también en el 23,8% (5/21) de pacientes con cariotipo 45,X y en el 6% (1/16) de los pacientes con mosaicismo. Utilizaron FISH para comprobar los resultados, en uno de los pacientes por FISH hizo falta examinar 500 metafases para encontrar una célula 46,XY. Otros autores encuentran secuencias de Y en un porcentaje menor de pacientes. Así, mediante PCR, Larsen et al.<sup>126</sup> no encontraron secuencias de Y en ninguno de las 40 pacientes con ST y cariotipo 45,X estudiados, ni tampoco Yorifugi et al.<sup>127</sup> entre 18 pacientes con cariotipo 45,X.

El ST se caracteriza por talla baja y disgenesia gonadal y a menudo existen otras anomalías como cuello alado (*pterygium colli*), *cubitus valgus*, tórax ancho con mamilas muy separadas, facies característica, línea posterior de implantación del cabello baja, metacarpianos cortos, uñas hipoplásicas y múltiples nevus pigmentados. Al nacimiento, es característico un linfedema periférico que produce edema en el dorso del pie y manos que conduce a la sospecha

diagnóstica del síndrome. Las malformaciones asociadas más frecuentemente encontradas son las óseas que aparecen en aproximadamente el 40% de los casos (acortamiento de metacarpianos, anomalías en la articulación de la rodilla, la escápula alata y deformidad de Madelung).<sup>128</sup> Malformaciones renales están presentes en el 25%-30% de los pacientes (anomalías de rotación, riñón en herradura, doble sistema pielocalicial, agenesia renal y obstrucción vesicoureteral).<sup>128,129</sup> Existe cardiopatía en aproximadamente el 25% de las pacientes, siendo las alteraciones más frecuentes las anomalías en la válvula aórtica y en segundo lugar la coartación de aorta.<sup>128,130,131</sup> La prevalencia de diabetes y de enfermedad de Addison es mayor que en la población general.<sup>132</sup>

El hipocrecimiento es el dato más constante en los ST, puede estar presente en el momento del nacimiento y continúa después con un retraso progresivo en la talla que es mayor a partir de los 3-4 años. Suelen terminar el crecimiento más tarde, retrasando el cierre epifisario incluso hasta los 19 años. Las pacientes con cariotipo 45,X son las que tienen un crecimiento menor.<sup>132</sup> A todas las niñas con talla baja debería realizársele cariotipo para descartar ST.<sup>115</sup> Gicquel et al.<sup>115</sup>, entre 375 pacientes con retraso en el crecimiento, encontraron 18 con ST (4,8%). El 43,75% de las pacientes presentaron tallas normales al nacimiento y en un 33% de los casos se observó un retraso en el crecimiento moderado (dentro de dos desviaciones estándar).

La amenorrea es frecuente en los ST, pero no es obligada. La menarquia, no inducida hormonalmente, es más frecuente en mosaicos y en algunas anomalías estructurales. Entre las 522 pacientes con ST estudiadas por Pasquino et al.<sup>121</sup>, 84 (16,1%) presentaron pubertad espontánea con menarquia; entre las pacientes cuyo cariotipo era monosomía X el 14,0% tuvieron pubertad espontánea y entre las pacientes con líneas celulares con más de una X el 32,0%.

Se han descrito casos de mujeres fértiles con mosaicos,<sup>132</sup> pero con gran riesgo de patología en sus hijos. Vázquez et al.<sup>132</sup> revisaron dos series publicadas de embarazos en mujeres con ST y 3 casos observados por ellos; entre un total de 203 gestaciones, 69 (34%) terminaron en abortos, 19 (9,3%) fueron mortinatos y 115 (56,6%) nacidos vivos; de ellos, en 40 casos (19,7%) existían anomalías congénitas y 75 (36,9%) eran recién nacidos sanos. Por tanto, la probabilidad de que un embarazo termine en un neonato sano es sólo del 37%.<sup>132</sup>

El desarrollo intelectual es normal en la mayoría de las pacientes.<sup>132</sup> Existen varios casos descritos con cromosomas marcadores o con anillos derivados del cromosoma X en los que existe retraso mental. Es probable que la falta de inactivación del cromosoma X, por la pérdida del Xic (*X inactivation center*), sea la causa que conduzca al retraso mental y a otras anomalías

fenotípicas que se han visto en estos pacientes.<sup>133,134</sup> El retraso mental en las pacientes con ST también podría estar relacionado con una disomía uniparental. Apoya esta teoría un estudio realizado por Yorifuji et al.<sup>135</sup> con 6 pacientes con ST, en cuyo cariotipo existía un anillo o un cromosoma marcador, de las cuales sólo 2 casos presentaban retraso mental. Se comprobó por FISH que todas las pacientes retenían el centrómero del X y el locus XIST en Xq13.2 que mapea en un pequeño intervalo que se sabe que contiene el Xic. Pero usando análisis con marcadores polimorfos se observó que las dos pacientes con retraso mental tenían disomía uniparental del cromosoma X, mientras que las otras cuatro tenían ambas contribuciones, la materna y la paterna.

Varias publicaciones han intentado establecer una relación entre fenotipo y cariotipo en el ST. El cuadro clínico más severo es más frecuente en pacientes con monosomía X, fundamentalmente en lo relativo a fenotipo facial, estatura corta y cardiopatías. Las personas con isocromosoma Xq presentan la mayoría de los rasgos clínicos de las pacientes con monosomía X completa. Cuando existe un isocromosoma Xp el cuadro clínico suele consistir en amenorrea primaria, baja producción de estrógenos, algunas de las anomalías del ST y estatura dentro del rango de normalidad. El fenotipo resultante de las deleciones en el cromosoma X varía en función del tamaño y localización de la deleción; en general las deleciones grandes, tanto del brazo corto como del brazo largo, conducen a amenorrea primaria, pero las deleciones menores se asocian a una gran variabilidad fenotípica.<sup>117</sup> La estatura corta ocurre siempre que existe una deleción terminal del brazo corto del cromosoma X, pero puede ocurrir también en pacientes con deleción en el brazo largo.<sup>136</sup> En un estudio con 393 ST se encontró una incidencia de cardiopatía de 38% en el grupo de cariotipo 45,X frente a un 11% en el grupo de monosomía X en mosaico.<sup>130</sup>

### **3) Síndrome XYY**

Tiene una incidencia de en torno a 1/1000 varones nacidos vivos.<sup>1,2</sup> No se asocia a ningún fenotipo anormal. Pero algunos individuos tienen talla alta, son torpes y agresivos o con problemas de comportamiento. Polisomías con más de dos cromosomas Y son raras. Se han descrito pocos casos con 3 cromosomas Y, el fenotipo consiste en estatura alta y anomalías menores como alteraciones dentales y digitales, la inteligencia suele estar en el límite bajo del rango de normalidad, en algunos pacientes se han visto problemas de comportamiento y la mayoría tienen hipogonadismo con azoospermia. Sólo se han publicado 3 casos de tetrasomía Y en línea única que cursaban con deformidades craneales, diversos grados de retraso mental y alteraciones endocrinas.

#### **4) Trisomía X**

Tiene una incidencia de 0,3-1/1.000 recién nacidas. Las mujeres 47,XXX suelen tener una estatura superior a la media. El desarrollo intelectual es variable desde normal a francamente disminuido, cuando existe tetrasomía o pentasomía X el retraso mental es mayor. Pueden existir otras anomalías asociadas.

#### **5) Anomalías estructurales del cromosoma Y**

Hasta aproximadamente el día 42 de gestación los embriones masculinos y femeninos son idénticos. En este momento, si el cromosoma Y está presente, la gónada indiferenciada se diferencia a testículo,<sup>137</sup> debido a la existencia de un gen, situado en el brazo corto del cromosoma Y, llamado SRY (*sex determinating region of the Y chromosome*).<sup>138</sup> En ausencia de SRY, la gónada bipotencial se diferencia a ovario, en un proceso que probablemente involucra otros genes determinantes del ovario. Posteriormente, la presencia de testículo determinará el desarrollo de genitales internos y externos masculinos, y su ausencia el desarrollo de los femeninos. Esto tiene lugar debido a la producción por el testículo de MIS (*Mullerian inhibiting substance*) y andrógenos.<sup>139</sup>

Los individuos con delección en el brazo corto del cromosoma Y que incluya el SRY son fenotípicamente mujeres, la mayoría de ellas con gónadas acintadas y con rasgos fenotípicos propios del síndrome de Turner. En estos pacientes existe riesgo de aparición de un gonadoblastoma. Entre 11 casos publicados, revisados por Hsu LYF,<sup>140</sup> 4 desarrollaron gonadoblastoma. Los individuos con deleciones en el brazo corto del cromosoma Y son diferentes de las mujeres 46,XY en que estas últimas no tienen rasgos fenotípicos del síndrome de Turner, se piensa que debido a que genes que suprimen el fenotipo de síndrome de Turner estén situados en Yp, se ha propuesto que la presencia en doble dosis de estos genes es necesaria para prevenir la aparición del fenotipo Turner. A diferencia del ST, los pacientes con deleciones en Yp habitualmente no tienen talla baja.<sup>140</sup>

La región de eucromatina del brazo largo del cromosoma Y corresponde a la banda Yq11. La mayoría de los pacientes descritos con deleciones en Yq11 tienen fenotipo masculino, aunque en algunos se ha visto fenotipo femenino, generalmente son infértiles con azoospermia u oligospermia, algunos pacientes tienen talla baja mientras que otros poseen estaturas normales. Las diferencias fenotípicas dependen de la localización exacta de la delección.<sup>140</sup>



## 6) Anomalías estructurales del cromosoma X

Las deleciones completas del brazo corto del cromosoma X en mujeres producen un fenotipo clásico de síndrome de Turner. Las pacientes con deleción terminal de Xp tienen estatura corta y pueden tener algunos de los rasgos fenotípicos del síndrome de Turner, pero la función gonadal suele estar preservada.<sup>141</sup> La talla baja se produce por la deleción de un gen, SHOX, que escapa de la inactivación y está localizado en la región pseudoautosómica de Xp.<sup>142</sup> En varones las deleciones en el brazo corto del cromosoma X producen diferentes síndromes de genes contiguos en función de la localización de la deleción.<sup>141</sup>

Las deleciones en el brazo largo del cromosoma X en mujeres producen fenotipos similares a los causados por las deleciones en Xp. No existe una correlación entre el tamaño de la deleción y la severidad del fenotipo y la misma deleción puede tener consecuencias distintas en diferentes personas incluso de la misma familia. Las deleciones en, o distales a, Xq25 tienen menos riesgo de producir alteraciones en la función ovárica.<sup>143,144</sup> Las deleciones distales a Xq25-26 no se asocian a talla baja.<sup>145</sup> Cuando las deleciones son distales a Xq24, si no existe una línea celular 45,X, los rasgos característicos del síndrome de Turner están ausentes.<sup>143</sup>

Therman et al.<sup>144</sup> revisaron 150 casos de mujeres con diversas anomalías estructurales en el cromosoma X y observaron que las portadoras de deleciones en Xp y en Xq sufrían disgenesia ovárica en un 65% y 93% respectivamente. Entre las pacientes con deleción en Xp que incluía la región distal presentaban talla baja el 88% y entre las mujeres con deleción en Xq el 43%.

Bardoni et al.<sup>146</sup> estudiando mujeres 46,XY que tenían duplicaciones microscópicas o submicroscópicas en el brazo corto del cromosoma X, definieron una región de 160 kilobases situada en Xp21.3. Duplicaciones en esta región producen inversión del sexo, por ello se le llamó DSS (*dosage sensitive sex-reversal*), ya que una doble dosis de DSS parece que impide al SRY hacer su efecto. En las células somáticas sólo un cromosoma X permanece activo, así en las mujeres, que tienen dos cromosomas X, uno de ellos es inactivado. En los síndromes con tres cromosomas X o más se inactivan todos menos uno. Como el DSS está sujeto a la inactivación del cromosoma X, adicionales cromosomas X no producen inversión del sexo, por ello los pacientes con Síndrome de Klinefelter (47,XXY) se desarrollan como varones. Pero una duplicación parcial en Xp que incluya al DSS puede producir un cambio de varón a mujer.<sup>147</sup>

En ocasiones se ha encontrado retraso mental en mujeres con una disomía funcional de genes del cromosoma X, que se expresan debido a la ausencia de inactivación como consecuencia

de anomalías estructurales en el cromosoma X que incluyan deleciones del centro de inactivación.<sup>148</sup>

La repercusión fenotípica de las anomalías depende del cromosoma X que esté inactivado. Cuando existen anomalías estructurales se produce un mecanismo de inactivación no aleatoria que intenta reducir las consecuencias fenotípicas de la alteración. En la mayoría de las mujeres con una anomalía estructural en el cromosoma X el cromosoma anormal es inactivo; sin embargo, en casos de translocación entre un cromosoma X y un autosoma se inactiva preferentemente el cromosoma X normal y las dos partes del cromosoma X translocado permanecen activas. Pero en la descendencia desequilibrada de un portador equilibrado, en la que sólo esté presente el producto de la translocación que porta el centro de inactivación, este cromosoma es el que se inactiva, permaneciendo activo el cromosoma X normal.<sup>111</sup> No siempre ocurre así la inactivación, las variaciones en el patrón de inactivación influyen en la expresión fenotípica de la anomalía cromosómica.<sup>149</sup>

### **C- Síndromes de microdeleción**

Los síndromes de microdeleción son un conjunto de entidades clínicas causadas por deleciones de regiones cromosómicas muy pequeñas, por lo que habitualmente no pueden detectarse con las técnicas citogenéticas convencionales. También se denominan síndromes de los genes contiguos, haciendo referencia a la pérdida de varios genes situados en la zona delecionada. Además, se han incluido dentro de los síndromes de microdeleción enfermedades debidas a duplicaciones de regiones cromosómicas pequeñas.

No siempre estos síndromes son causados por pérdida de material genético (o duplicación), sino que a veces son debidos a disomía uniparental o a mutaciones de metilación o, incluso, a mutaciones en genes aislados.

#### **1) Síndrome de Prader-Willi y síndrome de Angelman**

El síndrome de Prader-Willi afecta a 1/25000 niños, aunque probablemente su incidencia sea mayor, ya que muchos casos pueden pasar sin diagnosticar, pudiendo estar ésta en 1/10000-1/15000.<sup>150,151</sup>

Los rasgos clínicos de estos dos síndromes son diferentes, sin embargo, ambos son debidos a anomalías (microdeleciones en la mayoría de los casos) en la misma región del cromosoma 15, q11-q13. La diferencia estriba en el origen materno o paterno del material genético alterado o ausente. En el síndrome de Prader-Willi (SPW) falta (o está inactivado)

material genético de esta región del cromosoma 15 procedente del padre. En el síndrome de Angelman (SA) falta la contribución del material genético de la madre en esa misma región.<sup>152</sup> El SPW es el resultado de la pérdida de gen(es) que se expresan sólo en el cromosoma heredado del padre y el SA se produce por la pérdida de un gen que se expresan sólo en el cromosoma heredado de la madre. Este fenómeno se denomina impronta o marcaje genómico (*genomic imprinting*), que consiste en la diferente expresión de algunos genes en función de que sean heredados del padre o de la madre.<sup>153</sup> La impronta genómica no supone cambios en la secuencia de nucleótidos del ADN en esos genes, sino que se produce mediante un proceso de metilación. La patología en relación con la impronta genómica se produce cuando faltan los genes en el cromosoma en el que están activos (no metilados) en condiciones normales, bien por pérdida de estos genes por una delección o bien debido a disomía uniparental (DUP). Otro mecanismo de patología son las mutaciones de *imprinting* (o mutaciones de metilación), su presencia determina que individuos sin DUP presenten metilación de los genes tanto de origen materno como paterno; ésto se ha atribuido a la posible existencia de un centro de *imprinting*, que controlaría el proceso de metilación, de modo que mutaciones en este centro producirían patrones de metilación alterados.

La mayor parte de las veces (65-75%) estos síndromes son debidos a microdelección. En el resto de los casos las causas son: DUP, mutaciones de *imprinting* y, para el SA mutaciones en un solo gen.<sup>154</sup> La DUP es mucho más frecuente en el SPW (25%)<sup>155</sup> que en el SA (1-5%).<sup>156,157</sup> En torno a un 5% de pacientes con SPW y a un 25% con SA no tienen microdelección ni DUP; en algunos de estos casos se han detectado mutaciones de metilación<sup>158</sup> y, en pacientes con SA, mutaciones en un único gen (el gen UBE3A).<sup>159</sup> Un pequeño número de SPW y SA son debidos a malsegregación de reordenamientos cromosómicos paternos o maternos balanceados que conducen en los hijos a desbalance (monosomías que incluyen 15q11-13),<sup>160,161</sup> o bien causados por reordenamientos cromosómicos balanceados con puntos de rotura en esta región.<sup>162,163</sup>

El SPW es un síndrome caracterizado por hipotonía, retraso en el crecimiento, problemas de alimentación en los primeros meses de vida, hiperfagia con obesidad que comienza a los 1-2 años de edad, talla baja y retraso mental de medio a moderado. Frecuentemente presentan hipogonadismo, manos y pies pequeños y dismorfismo facial menor. Los pacientes con SPW, y también los que tienen SA, cuando son debidos a microdelección pueden tener piel, cabello y ojos hipopigmentados, sobre todo cuando se les compara con sus familiares. Esto ocurre si la delección incluye el gen P, que interviene en la pigmentación.<sup>164</sup> Cuando la causa es DUP o mutaciones de

*imprinting* no tienen hipopigmentación porque tienen dos copias funcionales del gen P, ya que este gen no está sometido al mecanismo de *imprinting*.

El síndrome de Angelman se caracteriza por retraso mental, más severo que en el SPW, que se acompaña de ausencia de habla, paroxismos de risa, movimientos espasmódicos atáxicos, aleteo de manos, convulsiones, microcefalia y prognatismo con lengua protuberante.<sup>165,166</sup>

## **2) Síndrome de Williams**

El síndrome de Williams (SW) tiene una incidencia de 1/20000-1/50000 recién nacidos vivos.<sup>167</sup>

El 95% de los SW son debidos a una delección submicroscópica en la región q11.23 del cromosoma 7.<sup>168,169,170</sup> Las manifestaciones clínicas del SW son variables. El 75% de los pacientes presentan alteraciones cardíacas, la más característica es la estenosis aórtica supravalvular, que puede estar asociada a estenosis de las ramas periféricas de las arterias pulmonares. Habitualmente existe déficit estatural, que puede estar presente ya en la vida intrauterina,<sup>171</sup> y dismorfismo facial moderado, pero característico, que se ha denominado cara de elfo o cara de duende.<sup>172</sup> Pueden presentar alteraciones oculares como iris estrellado y estrabismo<sup>173</sup> y también deformidades dentales características. Estos pacientes tienen arrugas prematuras en la piel, y una voz metálica o ronca.<sup>174</sup> Suele existir retraso mental.<sup>175</sup> El cuadro clínico puede acompañarse de hipercalcemia.<sup>172</sup> En el SW se ha visto una frecuencia aumentada de alteraciones renales tales como nefrocalcinosis, estenosis de la arteria renal, alteraciones en el tamaño renal e incluso agenesia renal.<sup>176</sup> Se han publicado casos de pacientes con estenosis aórtica supravalvular portadores de translocaciones cromosómicas en las que uno de los puntos de rotura estaba en 7q11.<sup>177,178,179</sup>

## **3) CATCH-22**

Las microdeleciones que afectan a la región q11.2 del cromosoma 22 están implicadas en la etiología de diversas condiciones clínicas: síndrome de DiGeorge (SDG),<sup>180</sup> síndrome velocardiofacial (SVCF),<sup>181</sup> síndrome cardiofacial (SCF) y anomalías cardíacas conotruncales aisladas.<sup>182,183</sup> Además, unos pocos casos de la asociación CHARGE [Coloboma, defectos cardíacos (*Heart*), Atresia de coanas, Retraso en el crecimiento y mental, anomalías Genitales y anomalías auriculares y/o sordera (*Ears*)]<sup>184</sup>, de síndrome de Noonan<sup>185</sup> y de síndrome de Cayler<sup>186,187</sup> se han asociado con microdeleciones en 22q11. También se han descrito pacientes afectados de diversas anomalías renales con microdeleciones en esta región cromosómica,<sup>188,189</sup> e incluso se han visto estas microdeleciones en enfermos con esquizofrenia.<sup>190</sup>

En un estudio realizado con 558 pacientes con microdeleciones en 22q11 el 9% de los individuos tenían paladar hendido, en el 32% había insuficiencia velofaríngea, en 60% de los casos existía hipocalcemia, el 75% de los pacientes tenían cardiopatía, y en el 36% de los que habían sido estudiados con ecografía abdominal se encontraron anomalías renales. El 8% de los pacientes murieron (todos salvo uno como consecuencia de la cardiopatía), entre los restantes pacientes el 62% presentaban un desarrollo psicomotor normal o sólo pequeños problemas de aprendizaje.<sup>191</sup>

Se utiliza el nombre de asociación CATCH 22 (defectos Cardíacos, Anomalías faciales, hipoplasia Tímica, paladar hendido = *Cleft palate* e Hipocalcemia) para aquellos pacientes que presentan microdelección en 22q11, como un término que abarca todo el grupo de desórdenes que se han visto asociados a microdeleciones en esta región cromosómica.

Con las técnicas citogenéticas convencionales, utilizando bandeo de alta resolución, las microdeleciones pueden ser identificadas en aproximadamente el 25% de los síndromes de DiGeorge,<sup>192</sup> y en el 20% de los pacientes con SVCF.<sup>193,194,195</sup> La citogenética convencional es indispensable para diagnosticar los casos debidos a translocaciones u otras aberraciones cromosómicas. Con FISH se observan microdeleciones en 22q11 aproximadamente en el 90% de los SD y en el 75% de los casos de SVCF.<sup>193,196,197,198,199</sup> En el síndrome facial con anomalías conotruncales la microdelección puede encontrarse en el 85% de los pacientes y en los defectos conotruncales aislados en el 20-30% de los casos.<sup>179,184,200,</sup>

#### **4) Otros síndromes de microdelección:**

**a) Síndrome de Langer-Giedion (tricorinofalángico tipo II):** Se caracteriza por presentar pelo escaso, nariz en forma de pera, epífisis en forma de cono, exostosis múltiples y retraso mental. Se produce por una microdelección en el brazo largo del cromosoma 8, en la región q24.1<sup>201,202</sup> Se han descrito varios casos debidos a deleciones más amplias del cromosoma que incluyen la banda q24.1 y otros causados por translocaciones o inversiones con puntos de rotura en esta región.<sup>203,204</sup> La deleción puede ser vista en ocasiones por técnicas citogenéticas convencionales,<sup>205</sup> el resto de los casos pueden ser diagnosticados por FISH o mediante técnicas moleculares.<sup>204,179</sup>

**b) Síndrome de Smith-Magenis:** Se caracteriza por hipoplasia mediofacial, hemicara ancha y plana con braquicefalia, prognatismo, puente nasal ancho, braquidactilia, retraso en el habla, voz profunda y ronca, alteraciones del comportamiento e hipermotilidad.<sup>206,207</sup> Es debido a deleción intersticial en la región p11.2 del brazo corto del cromosoma 17.<sup>208</sup> En la mayor parte de

los casos la delección puede observarse con técnicas citogenéticas convencionales.<sup>209</sup> Cuando esto no es posible puede ser detectada mediante FISH,<sup>210</sup> o con técnicas moleculares.<sup>211,179</sup>

**c) Retinoblastoma:** En torno a un 10% de pacientes con retinoblastoma presentan anomalías cromosómicas que involucran la región q14 del cromosoma 13. Alrededor del 5% de los casos tienen microdelección en 13q14<sup>212,215</sup>, que en ocasiones se ha visto en mosaico.<sup>213</sup> Otras veces se trata de inserciones o translocaciones con puntos de rotura en esta región.<sup>214</sup>

Cuando existe microdelección en 13q14, además del retinoblastoma, los pacientes suelen tener una facies típica, retraso mental y diversas anomalías asociadas que varían en función del tamaño de la delección.<sup>215,179</sup>

**d) Síndrome WAGR:** Se caracteriza por la asociación de varias alteraciones que dan nombre al síndrome: tumor de Wilms (W), aniridia (A), malformaciones genitourinarias (G) y retraso mental (R). Tiene una incidencia muy baja, con pocos casos descritos en la literatura.<sup>216,217</sup> Es debido a una microdelección en el brazo corto del cromosoma 11, en la región p13.<sup>216</sup> En ocasiones el síndrome WAGR, o algunas de las anomalías del síndrome, son causados por translocaciones aparentemente balanceadas con puntos de rotura en 11p13.<sup>218,219,220,221</sup>

**e) Síndrome de Beckwith-Wiedemann:** Aunque habitualmente se estudia con los síndromes de microdelección, el síndrome de Beckwith-Wiedemann es un síndrome de microduplicación.

Se caracteriza por sobrecrecimiento que puede afectar a todo el cuerpo, a un hemicuerpo o sólo a varios órganos, y un riesgo alto de tumores.<sup>222,223</sup> La región crítica del síndrome está localizada en el brazo corto del cromosoma 11, en la banda p15.5. En esta región cromosómica existen genes sometidos al mecanismo de impronta genómica.<sup>224,225,226</sup> Un 15-25% de los casos esporádicos son debidos a DUP paterna.<sup>227</sup> En otras ocasiones el síndrome se produce como consecuencia de duplicaciones cromosómicas del brazo corto del cromosoma 11 que incluyen la región 11p15.5, estas duplicaciones generalmente son pequeñas y por tanto difíciles de ver con técnicas citogenéticas convencionales. Las duplicaciones pueden ser debidas a una malsegregación de una translocación paterna balanceada.<sup>228,229</sup> El síndrome de Beckwith-Wiedemann también puede tener su origen en mutaciones en un único gen o en translocaciones o inversiones con puntos de rotura en 11p15.5. Las duplicaciones son exclusivamente de origen paterno, mientras que las translocaciones balanceadas y las inversiones son generalmente transmitidas por las madres. Esto es debido a que genes implicados en este síndrome están metilados (inactivos) en el alelo de origen materno y activo en el alelo paterno. Por ello, las

duplicaciones que afectan al cromosoma de origen paterno producirán una duplicación de la dosis del gen, mientras que las translocaciones e inversiones con puntos de rotura en 11p15, en el cromosoma heredado de la madre, producen una alteración en el mecanismo de metilación que hace que el alelo maternal translocado permanezca activo.<sup>230,231,221</sup>

**f) Síndrome de Miller-Dieker:** Se caracteriza por lisencefalia y retraso mental severo. La mayoría de los casos son debidos a microdeleciones en la región p13.3 del cromosoma 17.<sup>232</sup> Además, aproximadamente el 13% de los pacientes con lisencefalia aislada presentan microdeleciones en esta misma región cromosómica<sup>233,234</sup>. En ocasiones el síndrome de Miller-Dieker es causado por aberraciones cromosómicas que incluyen una monosomía parcial de 17p13.<sup>235,221</sup>

Con los procedimientos citogenéticos convencionales puede observarse la microdelección en el 50% de los casos. Con técnica de FISH se detecta microdelección en el 90% de los pacientes.<sup>236</sup> Se han publicado varios casos de SMD en los que el estudio cromosómico de los progenitores con técnicas convencionales era normal, sin embargo utilizando la técnica de FISH se encontraron reordenamientos cromosómicos balanceados sutiles que no habían podido ser detectados con las técnicas de bandeo utilizadas habitualmente. Una malsegregación de estas aberraciones cromosómicas parentales conducía a hijos con alteraciones cromosómicas no balanceadas, que incluían una monosomía de 17p13.3, produciendo SMD.<sup>84,237</sup>

**g) Síndrome de Rubinstein-Taybi:** Se caracteriza por retraso mental, estatura corta, anomalías faciales, pulgares anchos y dedos gordos de los pies anchos.<sup>239,238</sup>

En torno al 10-12% de los pacientes presentan microdelección en 16p13.3.<sup>239</sup> Algunos casos son debidos a aberraciones cromosómicas balanceadas (translocaciones o inversiones) con puntos de rotura en 16p13.3.<sup>240,241, 242,221</sup>

**h) Síndromes de microdelección en el cromosoma X:** Son debidos a deleciones en dos regiones del brazo corto del cromosoma X (Xp22.3 y Xp21), cada una de ellas contiene varios genes:

- En Xp22.3 están situados el gen de la sulfatasa esteroidea cuya deficiencia conduce a ictiosis, un gen de la talla baja, el gen de la condrodisplasia punctata, el del síndrome de Kallman y el del albinismo ocular.<sup>243,244</sup>

- En Xp21 se encuentra el gen de la distrofia muscular de Duchenne, el de la enfermedad granulomatosa crónica, un gen de la retinitis pigmentosa, el gen de la hipoplasia adrenal

congénita, el de la deficiencia de glicerol-kinasa, el del síndrome de McLeod y el del déficit de ornitín-decarboxilasa.<sup>245</sup>

Las deleciones pueden ser de tamaño y localización diferentes dentro de cada una de estas dos regiones cromosómicas. El cuadro clínico, en cada caso, dependerá de los genes que estén incluidos en la microdeleción.

## **IV- FRECUENCIA DE CROMOSOMOPATÍAS EN ALGUNAS PATOLOGÍAS**

### **A- Retraso mental**

El retraso mental (RM) está presente en alrededor del 3% de los individuos, pero más de la mitad de los casos son de causa desconocida. Se considera que existe RM leve cuando el cociente intelectual se encuentra entre 50 y 70 y RM severo cuando es menor de 50. Se estima una prevalencia de RM severo de 3,8/1000 y de RM leve de 2,3%.<sup>246</sup> El RM leve es muchas veces considerado como el final del espectro de inteligencia, mientras que el RM severo es probablemente consecuencia de eventos que alteran el desarrollo cerebral. Así, las causas del RM llegan a conocerse en el 20%-25% de los RM leves y en el 50%-65% de los RM severos.<sup>246,247</sup> El 14% de los RM leves y el 45% de los RM severos son de causa genética.<sup>247</sup> El porcentaje de pacientes con RM de causa cromosómica varía de unas publicaciones a otras entre cifras de 10-35%<sup>248,249,250,251</sup>. El síndrome de Down es la anomalía cromosómica más frecuente causante de RM.<sup>246</sup>

Con el estudio citogenético convencional no es posible detectar todas las anomalías cromosómicas que pueden conducir a RM, ya que alteraciones submicroscópicas de los cromosomas también pueden conducir a él; entre ellas se incluyen, además de la mayor parte de los síndromes de microdeleción, los reordenamientos cromosómicos no balanceados submicroscópicos de las regiones teloméricas<sup>252</sup>. Flint et al.<sup>253</sup> en un estudio con 99 individuos con RM de causa desconocida, estudiando polimorfismos de ADN subtelomérico, encontraron 3 casos de anomalías cromosómicas submicroscópicas. Estos autores estiman que los reordenamientos cromosómicos, no visibles con las técnicas citogenéticas convencionales, que afectan a las regiones teloméricas, son responsables de al menos el 6% de los RM idiopáticos.



## **B- Malformaciones congénitas**

Las malformaciones congénitas están presentes en alrededor del 2% de los recién nacidos. En un estudio realizado en España con 1.317.642 niños nacidos entre 1980 y 1997 se encuentra una incidencia de recién nacidos malformados de 1,84%. A la comunidad de Madrid pertenecían 95.951 de estos niños, encontrándose entre ellos una incidencia de neonatos malformados de 1,44%.<sup>254</sup>

Una de las causas más frecuentes de malformaciones congénitas son las cromosomopatías. En una serie de 3.898 niños malformados identificados durante los primeros días de vida, la etiología fue en el 51,92% de los casos de causa genética; en el 1,49% debido a causas ambientales (medicamentos, infecciones, alcohol, diabetes, etc.); en el 7,98% de origen multifactorial y un 38,64% de etiología desconocida. Dentro de las causas genéticas las anomalías cromosómicas fueron la etiología más frecuente, entre los 3898 niños el 34,63% tenían alguna cromosomopatía (66,7% de los pacientes con etiología genética). Las enfermedades autosómicas dominantes supusieron un 4,9%; las autosómicas recesivas un 5%; los síndromes de microdelección un 0,59%; los síndromes de secuencias repetidas de ADN un 0,13% y otras etiologías un 6,6%.<sup>254</sup>

En ocasiones las anomalías cromosómicas causantes de malformaciones congénitas no pueden detectarse con las técnicas citogenéticas convencionales, como ocurre con los reordenamientos teloméricos submicroscópicos y las microdeleciones. Otras técnicas, como la FISH, son necesarias para el diagnóstico de estas alteraciones.

Las cardiopatías son las malformaciones congénitas más frecuentes<sup>255</sup>, ocurren en aproximadamente el 1% de los recién nacidos vivos y en sólo el 10-20% de los casos se llega a conocer la causa.<sup>256</sup> El 5-15% de las cardiopatías congénitas son debidas a anomalías cromosómicas visibles con técnicas citogenéticas convencionales.<sup>257</sup> La causa cromosómica más frecuente de cardiopatías congénitas es el síndrome de Down (en torno al 7% de los pacientes con cardiopatías). Las anomalías más frecuentes en estos pacientes son los defectos septales aurículo-ventriculares, siendo el síndrome de Down el responsable del 60% de este tipo de cardiopatías<sup>258</sup>. Otras cromosomopatías frecuentemente asociadas a malformaciones cardíacas son las microdeleciones en 22q11.2, que están presentes en aproximadamente el 3% de los pacientes con cardiopatía. Aunque se han descrito microdeleciones en 22q11.2 en prácticamente cualquier tipo de cardiopatía congénita, las que con más frecuencia presentan la microdelección son las anomalías conotruncuales.<sup>183,259</sup> El síndrome de Turner es otra causa importante de cardiopatía

congénita, en estas pacientes las alteraciones más frecuentes son las anomalías de la válvula aórtica y en segundo lugar la coartación de aorta.<sup>260</sup> Otras alteraciones cromosómicas que pueden cursar con cardiopatía son la trisomía 18, trisomía 13, el síndrome de Wolf (4p-), el síndrome del grito de gato (5p-), la tetrasomía 22q (síndrome del ojo de gato) y otras muchas anomalías cromosómicas.

### **C- Alteraciones en el desarrollo y diferenciación sexual:**

Anomalías, tanto numéricas como estructurales, en los cromosomas sexuales pueden conducir a alteraciones en el desarrollo y diferenciación sexual. En ocasiones, las cromosomopatías de los autosomas también producen estos trastornos. Así, el 70% de las sujetos 46,XY con delección en el brazo corto del cromosoma 9 cursan con anomalías genitales de diverso grado, y hay descritos varios casos de inversión de sexo (mujeres XY).<sup>261,262,263,264,265</sup> Algunos de los pocos pacientes publicados con trisomía 22 presentaban hipoplasia de genitales, y en uno de ellos existía un cariotipo femenino (XX) con genitales externos masculinos.<sup>266</sup> La delección terminal del brazo largo del cromosoma 10 también se ha publicado asociada a inversión del sexo e intersexos.<sup>267</sup>

Zhang et al.<sup>250</sup> entre 60 personas con anomalías en el desarrollo y diferenciación sexual encontraron 6 pacientes (9,1%) con anomalías cromosómicas. Y Filippi et al.<sup>268</sup> entre 265 varones adultos con hipogonadismo encontraron 164 (61,8%) individuos con anomalías en los cromosomas sexuales, de ellos 158 (59,4%) presentaban un cariotipo 47,XXY; 5 un cariotipo femenino 46,XX y en un individuo el cariotipo fue 48,XXYY.

La amenorrea se asocia con frecuencia a cromosomopatías. En mujeres con amenorrea primaria diversos autores han encontrado una frecuencia de anomalías cromosómicas de 24-28%. y en pacientes con amenorrea secundaria de en torno al 10-15%.<sup>269,270,271, 250</sup>

### **D- Abortos espontáneos:**

El 15% de todos los embarazos clínicamente reconocibles terminan en abortos espontáneos. Aproximadamente el 50% de los abortos espontáneos son debidos a anomalías cromosómicas.<sup>1,39,272</sup> La mayoría de las concepciones con alteraciones cromosómicas terminan en abortos en las primeras 12 semanas de gestación. La viabilidad o no de una cromosomopatía depende de los cromosomas implicados y de la extensión de la anomalía. En líneas generales una

trisomía de una longitud mayor del 2% del complemento autosómico haploide es probable que no sea viable, mientras que si la longitud es menor del 1% es probable que sí lo sea.<sup>273</sup>

Se estima que el 30-50% de todas las concepciones terminan en abortos espontáneos precoces, antes de las cuatro semanas de gestación, que no son reconocibles clínicamente. Se cree que los embarazos con monosomías de los cromosomas autosómicos acaban en abortos en este período temprano, ya que las monosomías de cromosomas autosómicos, con la excepción de unos pocos casos de monosomía 21, no se observan nunca en los cariotipos realizados a restos abortivos.<sup>274</sup>

Entre los abortos espontáneos reconocibles clínicamente la anomalía cromosómica más frecuentemente encontrada es la monosomía X (20%), después la trisomía 16 (16%), trisomía 21 (5%) y la trisomía 22 (5%). El resto de las trisomías juntas suponen el 26% de las anomalías cromosómicas observadas, las triploidías el 16%, las tetraploidías el 6% y las anomalías estructurales el 4%.<sup>1</sup> Warburton et al.<sup>274</sup> revisan la incidencia de trisomías autosómicas en dos series de abortos previamente publicadas, la trisomía más frecuente fue la trisomía 16 que representó el 20-35% de todas las trisomías observadas, le seguían en frecuencia las trisomías para los 5 cromosomas acrocéntricos y el cromosoma 2, cada uno de ellos representaba el 5-10% de las trisomías. Las trisomías de los cromosomas 4, 7, 8, 9, 10, 18 y 20 supusieron cada una el 1-5% y raramente se encontraron trisomías de los otros cromosomas. La trisomía 16 casi siempre acaba en aborto en un período más temprano que las trisomías 13, 18 y 21 que son compatibles con un desarrollo embrionario relativamente normal.

En ocasiones en las parejas con abortos de repetición uno de los miembros es portador de una anomalía cromosómica balanceada. Entre parejas con pérdidas reproductivas repetidas diversos autores han encontrado una frecuencia de anomalías cromosómicas de 5-6%.<sup>321</sup>

## **E- Esterilidad**

Las cromosomopatías, no solamente de los cromosomas sexuales sino también de los autosomas, pueden producir alteraciones en la fertilidad.

Mau et al.<sup>275</sup>, entre 150 parejas estudiadas por esterilidad encontraron anomalías cromosómicas en el 12% (6% de las personas). Los sujetos azoospermicos son el grupo en el cual aparecen las cromosomopatías con más frecuencia (8-30%); además, en ellos las anomalías más frecuentes son las que afectan a los cromosomas sexuales, especialmente el síndrome de

Klinefelter que se observa en torno al 10% de los varones azoospermicos. Los pacientes con oligospermia tienen con menor frecuencia cromosomopatías y éstas afectan tanto a los cromosomas autosómicos como a los sexuales. Una causa importante de azoospermia son las microdeleciones en el cromosoma Y, en la región q11, varios autores en pacientes con azoospermia o con oligospermia severa han encontrado microdelección en Yq11 en un 3-30% de casos.<sup>276,277,278</sup> Los individuos infértiles con recuentos normales de espermatozoides presentan cromosomopatías en un 1-2% de los casos y éstas generalmente afectan a los autosomas.<sup>250,279,280</sup>

Los pacientes con anomalías cromosómicas balanceadas de los autosomas pueden ser infértiles debido a abortos espontáneos causados por la no viabilidad de concepciones con anomalías cromosómicas no balanceadas<sup>279,280</sup>. Pero también puede deberse a azoospermia u oligospermia por interferencia de la cromosomopatía en el proceso de espermatogénesis. La mayoría de los pacientes con azoospermia debida a anomalías de los cromosomas sexuales muestran niveles elevados de gonadotropinas y bajos de testosterona. Sin embargo, los pacientes azoospermicos con translocaciones autosómicas equilibradas generalmente tienen niveles normales de gonadotropinas y testosterona.<sup>56</sup>

La incidencia de subfertilidad en varones 47,XXY no difiere significativamente de la que existe en la población general.<sup>280</sup>

## **V- EDAD DE DIAGNÓSTICO DE LAS CROMOSOMOPATÍAS**

Las diversas anomalías cromosómicas se diagnostican en diferentes períodos de la vida, en función de la repercusión fenotípica de las mismas. Las anomalías en los autosomas suelen diagnosticarse en la niñez, mientras que las que involucran a los cromosomas sexuales se diagnostican con más frecuencia en la pubertad y en la vida adulta.<sup>250</sup>

**1) Durante la gestación:** La mayoría de las concepciones con anomalías cromosómicas terminan en abortos espontáneos. La mayor parte de las monosomías acaban en abortos en un período temprano del embarazo, también gran parte de las trisomías y las anomalías estructurales no equilibradas que incluyen monosomías parciales y trisomías parciales de segmentos cromosómicos grandes.

**2) Durante el periodo neonatal:** Solamente llegarán a este período las anomalías cromosómicas viables. Se diagnostican en este momento las cromosomopatías que producen suficientes alteraciones fenotípicas como para hacerse evidentes al nacimiento. Entre ellas están las trisomías 13, 18 y 21, algunos síndromes de Turner, anomalías estructurales no balanceadas y algunas anomalías en mosaico.

**3) Durante la etapa infantil:** En este período se diagnostican las anomalías cromosómicas que producen retraso en el crecimiento, retraso mental y anomalías fenotípicas menores que no fueron diagnosticadas en la etapa neonatal. Entre ellas se encuentran pequeñas deleciones y duplicaciones, algunas pacientes con síndrome de Turner, anomalías en mosaico y el síndrome del X frágil.

**4) Durante la pubertad:** Las cromosomopatías que se asocian a alteraciones en el desarrollo de los caracteres sexuales secundarios o a amenorrea se diagnostican en este período, entre ellas se incluyen algunos síndromes de Turner y de Klinefelter, los varones XX, las mujeres XY y diversas anomalías estructurales de los cromosomas X e Y.

**5) Durante la vida adulta:** En este período se diagnostican las cromosomopatías que conducen a esterilidad, abortos de repetición o descendencia con anomalías congénitas. Entre ellas se encuentran algunos síndromes de Klinefelter y de Turner, reordenamientos estructurales equilibrados, cromosomas marcadores y anomalías estructurales de los cromosomas X e Y.

# Objetivos

### **1<sup>er</sup> Objetivo:**

Existen pocos estudios publicados sobre la frecuencia de cromosomopatías en pacientes remitidos para análisis citogenético.

En este trabajo pretendemos **estudiar la frecuencia de cromosomopatías, y de los diferentes tipos de anomalías cromosómicas numéricas y estructurales**, en pacientes con alteraciones o con antecedentes familiares.

### **2º Objetivo:**

Las anomalías cromosómicas suponen una causa importante de retraso mental, malformaciones congénitas y otras alteraciones (talla baja, abortos, esterilidad, etc). Además, desempeñan un papel importante en la patogenia de neoplasias. La cuantía de la participación de las anomalías cromosómicas en la etiología de las diversas alteraciones congénitas y otros trastornos varía en los datos publicados por distintos autores. Además, en muchas ocasiones, los trabajos publicados cuentan con series pequeñas de pacientes y en algunas alteraciones no encontramos en la literatura ningún estudio que analizase la frecuencia de casos debidos a cromosomopatías.

En este trabajo pretendemos **estudiar la frecuencia de cromosomopatías en las distintas anomalías congénitas y en otros desórdenes**.

### **3<sup>er</sup> Objetivo**

Es difícil establecer el significado de la presencia de un mosaicismo de bajo grado en un estudio citogenético. Puede representar un verdadero mosaico, pero también puede ser un pseudomosaicismo producido por una alteración cromosómica que se ha generado en las divisiones celulares que tienen lugar durante el cultivo. Además, aunque se compruebe que se trata de mosaico real en otros cultivos en los que vuelva a observarse el mosaicismo en porcentaje bajo, la valoración de la significación clínica del mismo es controvertida.

Pretendemos **analizar la significación clínica de los mosaicismos de bajo grado** estudiando su posible implicación en la génesis de anomalías fenotípicas, trastornos de la fertilidad y riesgo de anomalías cromosómicas en la descendencia.

#### **4° Objetivo**

El significado biológico y clínico de los heteromorfismos de la heterocromatina no es bien conocido; se piensa que son variantes de la normalidad, aunque varios autores los han encontrado asociados a algunas condiciones clínicas. En este trabajo pretendemos **estudiar la frecuencia de heteromorfismos cromosómicos y analizar si existe relación entre ellos y las diversas alteraciones fenotípicas, los abortos de repetición o la existencia de descendencia afecta con anomalías cromosómicas.**



# **Pacientes y métodos**

## **I- PACIENTES**

Hemos estudiado 9089 pacientes que fueron atendidos en el Servicio de Genética del Hospital 12 de Octubre (Madrid) entre Enero de 1984 y Diciembre de 1999. A todos ellos se les realizó historia clínica, con recogida de datos personales y familiares, y estudio cromosómico.

### **A- Características de los pacientes**

#### **1) Edad**

Se incluyeron en el estudio 4652 niños (1390 menores de un año, 2436 de 1-10 años y 826 de 11-18 años) y 4437 adultos.

#### **2) Sexo**

Entre los 4652 niños estudiados, la distribución por sexos fue: 2715 varones, 1884 mujeres, 41 individuos con un sexo fenotípico ambiguo y 12 niños con sexo fenotípico distinto del sexo cromosómico (inversión del sexo).

La distribución por sexos entre los 4437 adultos fue la siguiente: 2396 varones, 2036 mujeres, 2 individuos con fenotipo intersexual y 3 individuos con inversión del sexo.

### **B- Grupos de pacientes**

Los pacientes fueron clasificados en varios grupos según el motivo por el que se le realizó el estudio citogenético.

#### **1) Niños**

- 4545 niños fueron estudiados por presentar diversas alteraciones fenotípicas.
- 82 pacientes por tener familiares afectados de alteraciones cromosómicas.
- 20 niños por existir en su familia antecedentes de anomalías fenotípicas de etiología desconocida y no poderse realizar cariotipo al enfermo.
- 5 casos eran individuos sanos, fenotípicamente normales y sin antecedentes familiares.

#### **2) Adultos**

- 906 pacientes fueron estudiados por presentar una o más alteraciones fenotípicas.
- 742 individuos por tener familiares afectados de cromosomopatía.

- 542 por existir algún antecedente familiar con alteraciones fenotípicas de etiología desconocida.
- 1166 individuos fueron estudiados por haber sufrido abortos de repetición (dos o más).
- 87 pacientes por esterilidad de causa desconocida.
- 116 individuos formaban parte de parejas referidas para diagnóstico prenatal y se les hizo cariotipo en sangre periférica por haberse observado en el estudio citogenético en líquido amniótico un heteromorfismo cromosómico.
- 878 individuos fueron incluidos dentro del grupo control, formado por personas sanas y sin antecedentes familiares a las que se les realizó estudio citogenético por ser donantes de semen, por formar parte de parejas a las que se les realizaba un diagnóstico prenatal citogenético indicado por edad o por tener un hijo con cromosomopatía de la que había resultado ser portador el otro progenitor.

## **II- SOPORTE INFORMÁTICO DE LOS DATOS**

Los datos procedentes de las historias clínicas de los pacientes fueron introducidos en bases de datos con soporte Excell (Microsoft).

De cada paciente se recogieron datos de: lugar de nacimiento, edad, sexo, edades paternas y maternas en el momento del nacimiento, duración del embarazo, problemas durante embarazo y parto, alteraciones fenotípicas o motivo del cariotipo, antecedentes familiares (de cromosomopatías, de enfermedades y de abortos de repetición), estudios cromosómicos realizados y resultado de los mismos.

## **III- MÉTODOS ESTADÍSTICOS**

El estudio estadístico se realizó utilizando el programa informático SigmaStat versión 2.0 para Windows.

Para el estudio de significación de tablas de frecuencias se utilizó la prueba de  $\chi^2$  de Pearson o el test exacto de Fisher.

## **IV- MÉTODOS CITOGENÉTICOS**

### **A- Recogida de la muestra**

La muestra utilizada para realizar los estudios citogenéticos fue sangre periférica, ya que su fácil obtención hace que sea el tejido de elección para el estudio del cariotipo constitucional. A cada pacientes se le extrajeron dos centímetros cúbicos de sangre que se recogió en tubos con heparina litio como anticoagulante. Las muestras se procesaron para cultivo celular en un período máximo de 2 horas desde la extracción.

### **B- Cultivo**

Se realizaron uno o dos cultivos por cada una de las muestras. Desde 1998 se realizó 2 cultivos a todas las muestras estudiadas: un cultivo convencional y otro cultivo al que se le añadió 0,1 ml de bromuro de etidio (10 $\mu$ g/ml) para obtener cromosomas para bandeo de alta resolución, con el fin de detectar anomalías estructurales sutiles que podrían pasar desapercibidas con el cultivo convencional.

#### **1) Cultivo convencional:**

##### **a) Medio de cultivo:**

Se utilizó medio RPMI (Gibco) que se adquiere en frascos de 100 ml preparados comercialmente. Los frascos de RPMI se suplementan en el laboratorio, en campana de flujo laminar y en condiciones de esterilidad, con 1,5 ml de tampón Hepes 200 mM (Gibco), 11 ml de suero de ternera recién nacida (Gibco), 1ml de L-glutamina (Gibco), 10.000 U/ml de penicilina (Gibco) y 10.000  $\mu$ g/ml de estreptomicina (Gibco).

##### **b) Técnica de cultivo:**

Las muestras de sangre periférica se dejan sedimentar 30-60 minutos y posteriormente se utiliza para la siembra una mezcla de la capa leucocitaria (0,1 ml) y plasma sanguíneo (0,25 ml). Se añade 0,35 ml de muestra a 5 ml de medio RPMI suplementado. Cuando la cantidad de muestra obtenida es muy pequeña, esto ocurre principalmente en neonatos, se realizan microcultivos sembrando la totalidad de la muestra obtenida. La siembra se lleva a cabo en condiciones de esterilidad. A cada tubo de cultivo se añade 0,15 ml de fitohemaglutinina (Gibco), agente que se utiliza para inducir la división celular fundamentalmente de linfocitos T.

Los tubos de cultivo se incuban en estufa a 37°C durante 72 horas.

Pasado este tiempo se añade 0,25 ml de colchicina (que actúa deteniendo la división celular en metafase) a cada uno de los tubos y se deja otros 60 minutos en estufa.

## **2) Cultivo para bandeo de alta resolución:**

Se realiza para la obtención de preparaciones con células en profase o prometafase, lo que permite conseguir patrones de bandeo cromosómico de hasta 850 bandas por complemento haploide. Para ello utilizamos un agente intercalante del ADN, que es el bromuro de etidio. El cultivo se realiza con la misma metodología que los cultivos normales, pero una hora antes de sacrificar los cultivos se añade, además de la colchicina, 0,1 ml de bromuro de etidio.

## **3) Cultivos especiales:**

### **a) Cultivos para el diagnóstico de la anemia de Fanconi (estudio de roturas cromosómicas):**

Se realizaron 3 cultivos por muestra:

- Un cultivo convencional en medio RPMI para el estudio de roturas espontáneas: Se procesa con la técnica habitual de cultivo de sangres periféricas.
- Dos cultivos para estudio de roturas cromosómicas inducidas con diepoxibutano (DEB): Se realizan dos cultivos de sangre periférica en medio RPMI con el procedimiento habitual. A las 24 horas se añade, a cada uno de ellos, 10 µl de una solución madre que se prepara añadiendo 5 µl de DEB a un frasco de 100 ml de RPMI. Uno de los cultivos se sacrifica a las 72 horas y el otro a las 96 horas.

### **b) Cultivos para diagnóstico del síndrome del X frágil:**

En pacientes con este síndrome, el sitio frágil se ve raramente en células que han crecido en medios de cultivo habituales, pero se pone de manifiesto cuando se utiliza un medio de cultivo pobre en ácido fólico como el medio 199, o bien agregando al medio una sustancia antifolato o un enzima inhibidor de la timidín-sintetasa como el metotrexato. Es conveniente utilizar más de un sistema de inducción de los sitios frágiles para evitar dar resultados falsos negativos, ya que el número de células que exhiben el sitio frágil varía significativamente en los distintos individuos afectados y en el mismo individuos en función del sistema de inducción.

En este trabajo se realizaron dos cultivos por muestra. En ambos el medio utilizado fue 199 (medio pobre en ácido fólico), 5ml de medio suplementado con 0,075 ml de tampón Hepes 200 mM (Gibco); 0,25 ml de suero de ternera recién nacida; 0,05 ml de glutamina; 1ml de L-

glutamina (Gibco); 500 U/ml de penicilina (Gibco) y 500 µg/ml de estreptomicina (Gibco). Uno de los cultivos se sacrifica a las 72 horas. Al otro cultivo, a las 48 horas, se le añade 0,1 ml de metotrexato y se deja en estufa otras 24 horas, pasado este tiempo se centrifuga, se desecha el sobrenadante y se añade nuevamente medio 199 suplementado y 1 ml de timidina, se deja durante 6 horas en estufa y posteriormente se sacrifica.

### **C- Obtención de extensiones**

El material celular procedente del cultivo se centrifuga a 1300 rpm (revoluciones por minuto) durante 10 minutos, se elimina el sobrenadante, se resuspende el botón celular, se añade 4 ml de solución hipotónica de KCl (Merk) 0,075 M precalentada a 37°C y se deja actuar en baño a 37°C durante 18 minutos. Posteriormente se centrifuga durante 10 minutos a 1300 rpm, se desecha el sobrenadante y se hacen tres pases por fijador del siguiente modo: se añade fijador (una parte de ácido acético glacial y tres partes de metanol), se centrifuga a 1300 rpm durante 10 minutos y se tira el sobrenadante. En el último pase por fijador se desecha el sobrenadante dejado aproximadamente 1 ml.

Con el pellet resultante se realizan varias extensiones por caso, cuya calidad se evalúa en microscopio de contraste de fases.

Antes de la tinción las extensiones se dejan envejecer 3-4 días a temperatura ambiente.

### **D- Técnicas de identificación cromosómica**

1) **Bandeo GTG con tinción de Wright**: Esta tinción produce un patrón de bandeo específico para cada pareja de cromosomas.

#### **a) Pretratamiento de las extensiones**

Se utilizan dos métodos:

-1<sup>er</sup> método: Introducción del porta en recipiente con HCl (Merck) 0,1 N a temperatura ambiente durante 10 minutos, se lavan las extensiones con agua del grifo, se introducen durante 10 minutos en 2 x SSC (NaCl 0,15 M/citrato trisódico 0,015 M) en baño a 65°C, se lavan con agua corriente y se secan.

- 2º método: Introducción de la preparación durante 10 minutos en 2 x SSC en baño a 65°C, lavado con agua corriente, posteriormente se introduce el porta durante 12 segundos en un recipiente con solución de tripsina [los frascos comerciales con 0,5 g de tripsina liofilizada

(Gibco) se reconstituyen con 100 ml de PBS, a 4ml de tripsina reconstituida se le añade 21 ml de suero salino normal y 25 ml de buffer fosfato], se lavan las extensiones con agua del grifo y se secan.

**b) Tinción:**

Se realiza con una mezcla de tampón Sörensen, tampón fosfato a pH 6,8 y colorante Wright (solución al 0,25% en metanol) en una proporción 1,5:1,5:1, durante 45-60 segundos, y posterior lavado con agua el grifo y secado.

**2) Bandeo CBG:** Produce una tinción selectiva de la heterocromatina constitutiva que se localiza fundamentalmente en las regiones centroméricas y en la región distal del brazo largo del cromosoma Y.

**a) Pretratamiento de las extensiones:** Se incuban las extensiones en HCl (Merck) 0,2 N a temperatura ambiente durante 30 minutos, pasado este tiempo se lavan con agua del grifo y se secan al aire. Posteriormente se introducen en un recipiente con solución saturada de hidróxido de bario (Merck) a 50°C durante 13 segundos, se lavan con agua destilada y se incuban 50 minutos en 2xSSC (NaCl 0,15 M/citrato trisódico 0,015 M) a 60°C, se lava con agua del grifo y se deja secar al aire.

**b) Tinción:** Se realiza con una mezcla de tampón Sörensen, tampón fosfato a pH 6,8 y colorante Wright (solución al 0,25% en metanol) en una proporción 1,5:1,5:1, durante 2-5 minutos.

**3) Tinción Ag-NOR:** Se utiliza para el estudio de las Regiones Organizadoras Nucleolares (NOR) que se localizan en las constricciones secundarias (tallos) de los brazos cortos de los cromosomas acrocéntricos. Con esta técnica se produce un precipitado de plata en aquellas regiones que han permanecido activas en la división celular anterior.

La técnica consiste en tratar la extensión con una mezcla de 0,2 gramos de nitrato de plata y 5 gotas de solución de ácido fórmico (que se prepara previamente añadiendo a 200 ml de agua destilada 3 gotas de ácido fórmico) dejándolas en cámara húmeda en estufa a 37°C durante 1-16 horas. Posteriormente se realiza tinción con colorante Giemsa durante 2 minutos.

## **E- Estudio al microscopio de campo claro**

1) **Cariotipo convencional**: Una vez teñidas las preparaciones se analizan con bandeo GTG en microscopio 20-30 células por paciente. En los casos en los que observamos heteromorfismos cromosómicos se realizaron preparaciones con bandeo CBG y/o tinción Ag-NOR que fueron estudiadas al microscopio.

2) **Estudio del síndrome del X frágil**: Se analizaron un mínimo de 50 células por caso. Se consideró positivo el resultado cuando se encontró una cifra de células con sitio frágil en el cromosoma X igual o mayor al 4%.

3) **Estudio de roturas cromosómicas para diagnóstico de anemia de Fanconi**: Se analizaron 115 metafases por caso, 15 metafases en el cultivo sin DEB para el estudio de roturas espontáneas y 50 metafases de cada uno de los dos cultivos con DEB para el estudio de roturas inducidas. Cada metafase analizada se puntuó para anomalías cromosómicas según los criterios de Auerbach<sup>100</sup>, se diagnosticó anemia de Fanconi cuando el número de roturas inducidas por DEB fue mayor o igual a 1,3 roturas/célula.

## **F- Fotografiado**

Durante los primeros años del estudio se realizó con cámara fotográfica acoplada a un microscopio Nikon.

Posteriormente se incorporó un autoanalizador de imagen (Cytoscan), mediante el cual las imágenes captadas en una cámara fotográfica son transformadas a formato digital, desde este formato se realiza cariotipo y se imprime en impresora laser. Desde 1995 se utilizó, junto con el anterior, el autoanalizador de imagen Cytovision.



## **V- MÉTODOS DE CITOGENÉTICA MOLECULAR: FISH**

La FISH (hibridación *in situ* fluorescente) se utilizó para confirmación y caracterización de anomalías cromosómicas diagnosticadas con técnicas citogenéticas convencionales y para el diagnóstico de algunas patologías que no pueden detectarse con el cariotipo convencional.

Se han utilizado en este trabajo sondas de las casas comerciales Oncor y Vysis, los protocolos fueron diferentes para cada una de ellas.

### **A- Sondas empleadas**

#### **1) Según el tipo de marcaje:**

a) **Sondas directas:** En las sondas marcadas directamente el fluorocromo está incorporado al oligonucleótido.

b) **Sondas indirectas:** En las sondas marcadas indirectamente el oligonucleótido lleva incorporado un hapteno. Cuando se utilizan estas sondas, posteriormente es necesario hacer una detección mediante anticuerpos marcados con moléculas fluorescentes. Este paso no es necesario cuando se emplean sondas marcadas directamente con fluorocromos.

#### **2) Según la región cromosómica que detecten:**

a) **Sondas para secuencias de ADN alfa-satélite:** que se localizan fundamentalmente en la región centromérica y paracentromérica de todos los cromosomas.

b) **Sondas WCP: (*Whole Chromosome Painting*):** Contiene librerías de secuencias génicas correspondientes a cromosomas enteros, marcan la totalidad del cromosoma.

c) **Sondas para secuencias específicas de locus (sondas de secuencia única):** Derivan de cósmidos y fagos que contienen secuencias correspondientes a determinadas regiones de secuencia única del genoma. Localiza regiones específicas dentro de un cromosoma. En este trabajo hemos utilizado las siguientes sondas de secuencia única:

-*Sondas para estudio de síndromes de microdelección:* síndrome del grito de gato (región 5p15.2), síndrome de Williams (región 7q11.23), síndromes de Prader Willi y Angelman (región 15q11-13), CATCH 22 (región 22q11.2), síndrome de Miller Dieker (región 17p13.3), síndrome de Rubinstein Taybi (región 16p13.3), ictiosis por déficit de sulfatasa esteroidea (región Xp22.3) y síndrome de Kallman (región Xp22.3)

- *Sondas para estudio de regiones teloméricas.*

## **B- Técnica**

1) **Tratamiento del porta**: Se incuba en 2xSSC a 37°C durante 30 minutos. Posteriormente se procede a la deshidratación mediante lavados sucesivos en etanol al 70, 80, 90 y 100% durante 2 minutos cada uno. Las preparaciones se dejan secar al aire.

2) **Desnaturalización de la muestras**: Se realiza introduciendo el porta en una solución de desnaturalización (formamida al 70%/2xSSC) 2 minutos en baño a 72°C.

Después se introducen las preparaciones en baños sucesivos de etanol frío (-20°C) al 70, 80, 90 y 100% durante 2 minutos cada uno.

3) **Desnaturalización de la sonda**: los protocolos varían en función del tipo de sonda empleado en cada caso:

- Sondas WCP: se precalienta la sonda a 37°C durante 5 minutos. Se introducen 10 µl de la sonda comercial (ya preparada con hibrisol VII (50% formamida/2xSSC) en un tubo de microcentrífuga y se desnaturaliza introduciéndola en baño a 70°C durante 10 minutos, se incuba a 37°C durante 1 hora.

- Sondas centroméricas: se precalienta la sonda a 37°C durante 5 minutos. Se mezcla 2,2 µl de sonda con 30 µl de hibrisol VI (65% formamida/2xSSC). Se desnaturaliza a 70°C durante 5 minutos y se pone de inmediato en hielo.

- Sondas de secuencias específicas de locus: El preparado comercial contiene la sonda mezclada con DNA bloqueante e hybrisol-formamida al 50%/2xSSC. Se precalienta la sonda a 37°C durante 5 minutos. Se desnaturaliza introduciéndolas a 73°C durante 5 minutos.

4) **Hibridación**: Se centrifuga la sonda a 6000 rpm durante 2-3 segundos y se coloca sobre el porta, se pone encima un cubre y se sella con pegamento. Se introduce en cámara húmeda en estufa a 37° C durante 45 minutos en el caso de las sondas centroméricas y durante 17-18 horas en el caso de las sondas WCP y sondas de secuencia única.

Desde la introducción en el laboratorio de las sondas de la casa comercial Vysis se utiliza un sistema semiautomático, Hybrite, que permite realizar la desnaturalización de la muestra y la desnaturalización de la sonda simultáneamente y posteriormente la hibridación. Después de la incubación de los portas en 2xSSC y los pases por etanol se pone la sonda (preparada mezclando 1 µl de sonda, 7 µl de buffer de hibridación y 2 µl de agua destilada) sobre el porta, se coloca el cubre encima y se introducen en el Hybrite. Este aparato lleva incorporado un programa que determina una temperatura inicial de 68°C durante 5 minutos, para que se produzca la

denaturalización de la sonda y de la muestra, y posteriormente la temperatura desciende a 37°C (durante 4 horas cuando se trata de sondas alfa satélite y durante 16 horas en el caso de las sondas WCP y las sondas de secuencia única) para que se produzca la hibridación.

Según los casos, se utilizó hibridación de una sola sonda en una preparación o bien cohibridación de dos o más sondas en una misma extensión. En este último caso, cada una de las sondas está marcada con moléculas diferentes, bien fluorocromos o bien haptenos, lo que permite que la señal de cada una de ellas pueda visualizarse en microscopio de fluorescencia con un color diferente.

### **5) Lavados posthibridación**

El protocolo es distinto para las diferentes sondas:

- Sondas WCP: Se lavan los portas en solución de baja astringencia (formamida al 50%/2xSSC) a 43°C durante 15 minutos y, posteriormente, se introduce en 1xSSC a 60°C durante 15 minutos. Se sacan los portas y se dejan secar al aire.

- Sondas para secuencias de ADN alfa-satélite: Se lavan los portas en solución de alta astringencia (65% formamida/0,25xSSC) a 72°C durante 5 minutos; posteriormente, se introducen en 1xPBD (detergente tamponado fosfato) durante 2 minutos. Se sacan los portas y se dejan secar al aire.

- Sondas de secuencia única: Se lavan los portas en solución de baja astringencia a 43°C durante 15 minutos. Se introducen en 2xSSC a 37°C durante 15 minutos y, posteriormente, en 1xPBD a temperatura ambiente durante 10 minutos. Se extraen los portas y se dejan secar al aire.

**6) Detección:** Este paso se realiza sólo para las sondas marcadas indirectamente, no se emplea en el caso de las sondas con marcaje directo.

Consiste en la incubación con diferentes anticuerpos, dependiendo del marcaje de la sonda:

- Sondas marcadas con biotina: se realiza la detección con avidina marcada con FITC (fluoresceína). Se colocan sobre el porta 60 µl de avidina marcada con FITC y se incuban durante 7 minutos a 37°C en cámara húmeda. Posteriormente, se realizan 3 lavados de los portas en 1xPBD a temperatura ambiente de 2 minutos cada uno.

- Sondas marcadas con digoxigenina: se utiliza para la detección anticuerpo antidigoxigenina de oveja marcado con FITC o con rodamina. Se añade 60 µl del anticuerpo al

porta y se incuba 30 minutos a 37°C en cámara húmeda. Posteriormente, se realizan 3 lavados de los portas en 1xPBD a temperatura ambiente de 2 minutos cada uno.

7) **Amplificación:** Este paso se realiza, igual que el anterior, sólo para las sondas marcadas indirectamente. Los anticuerpos utilizados en este paso varían en función del anticuerpo usado en la detección.

- Si se hizo detección con avidina: en la amplificación se utilizan anticuerpo antiavidina y posteriormente avidina marcada con FITC. Se colocan sobre el porta 60 µl de anticuerpo antiavidina y se incuba durante 7 minutos en cámara húmeda a 37°C. Se lava con tres pases por 1xPBD de dos minutos cada uno. A continuación se aplican 60 µl de avidina marcada con FITC y se incuba a 37°C en cámara húmeda.

- Si se hizo detección con anticuerpo antidigoxigenina de oveja: en la amplificación se utilizan anticuerpo antioveja de conejo y, posteriormente, anticuerpo anticonejo marcado con FITC o con rodamina (en función del fluorocromo utilizado en la detección). Se incuba durante 30 minutos con anticuerpo antioveja de conejo y, posteriormente, otros 30 minutos con anticuerpo anticonejo en estufa a 37°C en cámara húmeda. Entre ambas incubaciones se realizan 3 lavados de los portas en 1xPBD a temperatura ambiente de 2 minutos cada uno.

8) **Tinción:** En la mayor parte de los casos para la tinción de las preparaciones se utilizó DAPI (4,6-diamino-2-fenil-indol). En algunos casos se utilizó yoduro de propidio.

Se ponen 15 µl del preparado comercial sobre el porta, se coloca el cubre y se deja en oscuridad a 4°C durante al menos 20 minutos.

## **C- Observación al microscopio de fluorescencia**

Las preparaciones se visualizaron al microscopio de fluorescencia utilizando filtros de excitación específicos para cada fluorocromo.

1) Estudio mediante FISH de alteraciones numéricas y estructurales: se analizaron 15-30 metafases por caso.

2) Estudio mediante FISH de mosaicismo ocultos en pacientes con síndrome de Turner: se utilizan en cada paciente las sondas DXZ1 (para la región centromérica del cromosoma X) DYZ3 (para la región centromérica del cromosoma Y) y DYZ1 (para la heterocromatina distal del cromosoma Y); se analizan en cada paciente 500 metafases.

## **D- Fotografiado**

Durante los primeros años del estudio se utilizó un microscopio Nikon dotado de equipo de epifluorescencia y máquina fotográfica incorporada.

Desde 1995 se utilizó un microscopio Olympus conectado a un autoanizador de imagen (Cytovision) mediante el cual las imágenes observadas al microscopio son captadas por una cámara y transformadas a formato digital. Posteriormente se imprimen en papel y se archivan en la historia clínica del paciente un mínimo de 2 células por caso.

# Resultados

Los resultados obtenidos los hemos dividido en 4 apartados:

I- Estudio de la frecuencia de anomalías cromosómicas y de los distintos tipos de cromosomopatías.

II- Cromosomopatías y alteraciones clínicas: estudio de la frecuencia de anomalías cromosómicas entre pacientes con diferentes patologías.

III- Mosaicismos de bajo grado: estudio de su frecuencia y significación clínica.

IV- Heteromorfismos cromosómicos: análisis de la frecuencia y significación de los mismos.

## **I- FRECUENCIA DE ANOMALÍAS CROMOSÓMICAS**

Entre los 9089 pacientes estudiados, en 862 (9,48%) encontramos anomalías cromosómicas, en los restantes 8227 el cariotipo no mostró alteraciones.

La frecuencia de cromosomopatías fue distinta en los diferentes grupos de pacientes de la serie. En 5451 pacientes existían alteraciones fenotípicas diversas, entre ellos 647 (11,87%) presentaban anomalías cromosómicas. Entre los 824 individuos a los que se hizo cariotipo por tener familiares con cromosomopatías, encontramos alteraciones en el cariotipo en 164 (19,9%). Entre las 562 personas estudiadas por tener un familiar con anomalías fenotípicas del que no se conocía el cariotipo, observamos alteraciones cromosómicas en 7 (1,24%). Entre 1166 individuos estudiados por abortos de repetición, existían cromosomopatías en 38 (3,26%). No encontramos ninguna anomalía cromosómica entre 87 pacientes con esterilidad de causa desconocida. Tampoco se encontraron alteraciones cromosómicas entre 116 individuos estudiados por haberse encontrado un heteromorfismo cromosómico en un diagnóstico prenatal indicado por edad. Entre 883 pacientes sanos y sin antecedentes familiares se diagnosticaron cromosomopatías en 6, excluimos para calcular la frecuencia un paciente que fue diagnosticado en un cariotipo realizado prenatalmente y que se repitió después del nacimiento en sangre periférica, quedando 882 pacientes sanos de los que 5 tenían anomalías cromosómicas (0,57%).

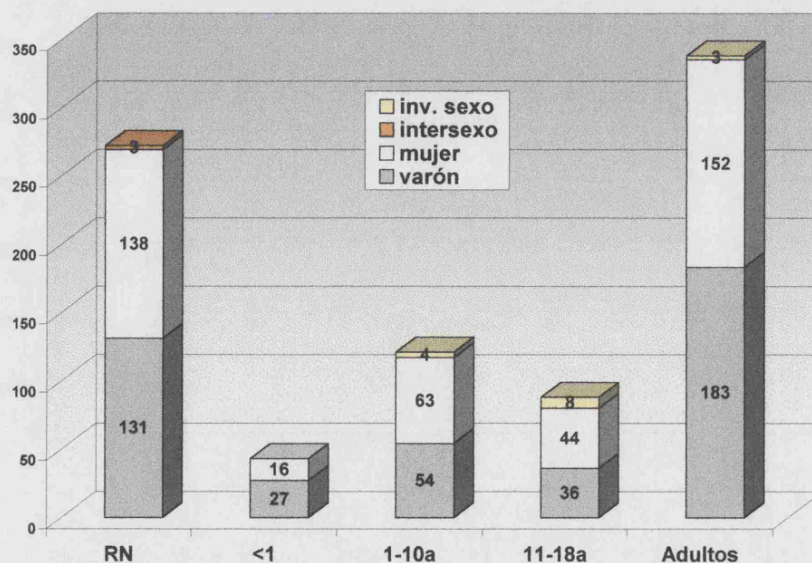
### **A- Edad de diagnóstico de las cromosomopatías**

La edad de diagnóstico de las cromosomopatías depende del momento en que se pongan de manifiesto las alteraciones fenotípicas. Mientras que las alteraciones en los autosomas frecuentemente se hacen evidentes al nacimiento o en los primeros años de vida, muchas de las alteraciones en los cromosomas sexuales no se ponen de manifiesto hasta la pubertad o incluso más tarde.

Las alteraciones cromosómicas que no se acompañan de repercusión fenotípica suelen diagnosticarse por la existencia de esterilidad o abortos de repetición en la edad adulta, o bien en un estudio cromosómico indicado por la presencia en otro familiar de una cromosomopatía.

Entre nuestros pacientes el 60,79% (524/862) de las alteraciones cromosómicas fueron diagnosticadas en niños y el 39,21% (338/862) en adultos.

En la figura 1 se recogen las edades en que se diagnosticaron las cromosomopatías en los pacientes de esta serie y la distribución por sexos de los mismos. En una parte de pacientes, aunque las anomalías fenotípicas se pusieron de manifiesto previamente, no se hizo el diagnóstico de la cromosomopatía hasta más tarde, fundamentalmente en los primeros años del estudio, en los que la realización de pruebas citogenéticas se hacía de una forma más restringida.

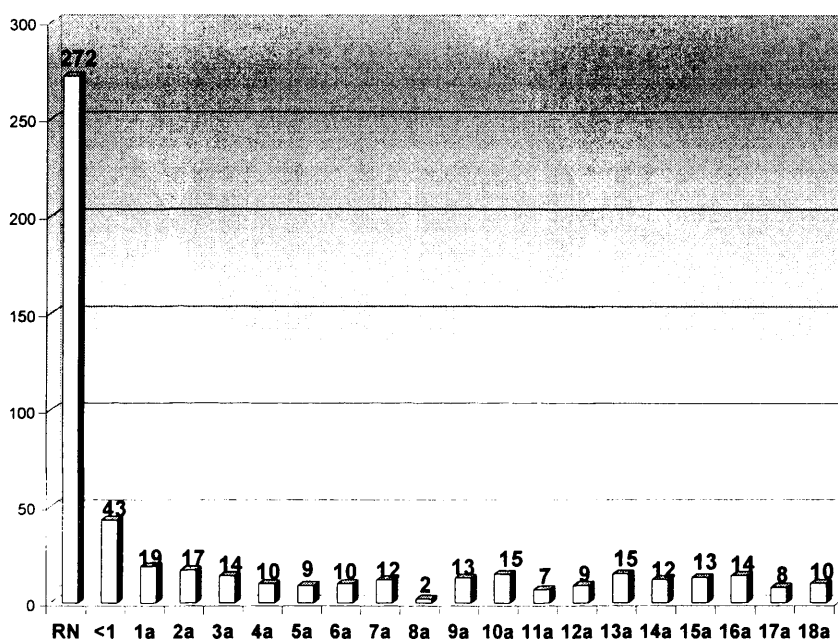


**Figura 1:** Edad de diagnóstico de las anomalías cromosómicas. RN= recién nacido, <1=menor de 1 año excluido el período neonatal, a= año.



El 60,1% de las anomalías cromosómicas diagnosticadas en niños se detectaron en el primer año de vida. En el período neonatal se diagnosticaron el 51,9% y en el resto del primer año de vida el 8,2%.

En niños, la distribución por edades en el momento del diagnóstico está reflejada en la figura 2.



**Figura 2:** Edad de diagnóstico de las cromosomopatías en niños. RN= recién nacido, <1=menor de 1 año excluido el periodo neonatal, a= año.

## **B- Anomalías cromosómicas diagnosticadas en niños**

Se realizó estudio citogenético a 4652 niños entre los cuales encontramos anomalías cromosómicas en 524 (11,26%).

En el grupo de 4545 niños estudiados por presentar alteraciones fenotípicas se observaron cromosomopatías en 499 (10,98%). Entre los 82 niños estudiados por tener antecedentes familiares de anomalías cromosómicas, en 23 (28,05%). Entre los 20 niños con antecedentes familiares de alteraciones fenotípicas en 1 (5%). Y entre los 5 niños estudiados con fenotipo normal y sin antecedentes familiares encontramos anomalías cromosómicas en 1 paciente (que había sido diagnosticado previamente en cariotipo intraútero).

### **C- Anomalías cromosómicas diagnosticadas en adultos**

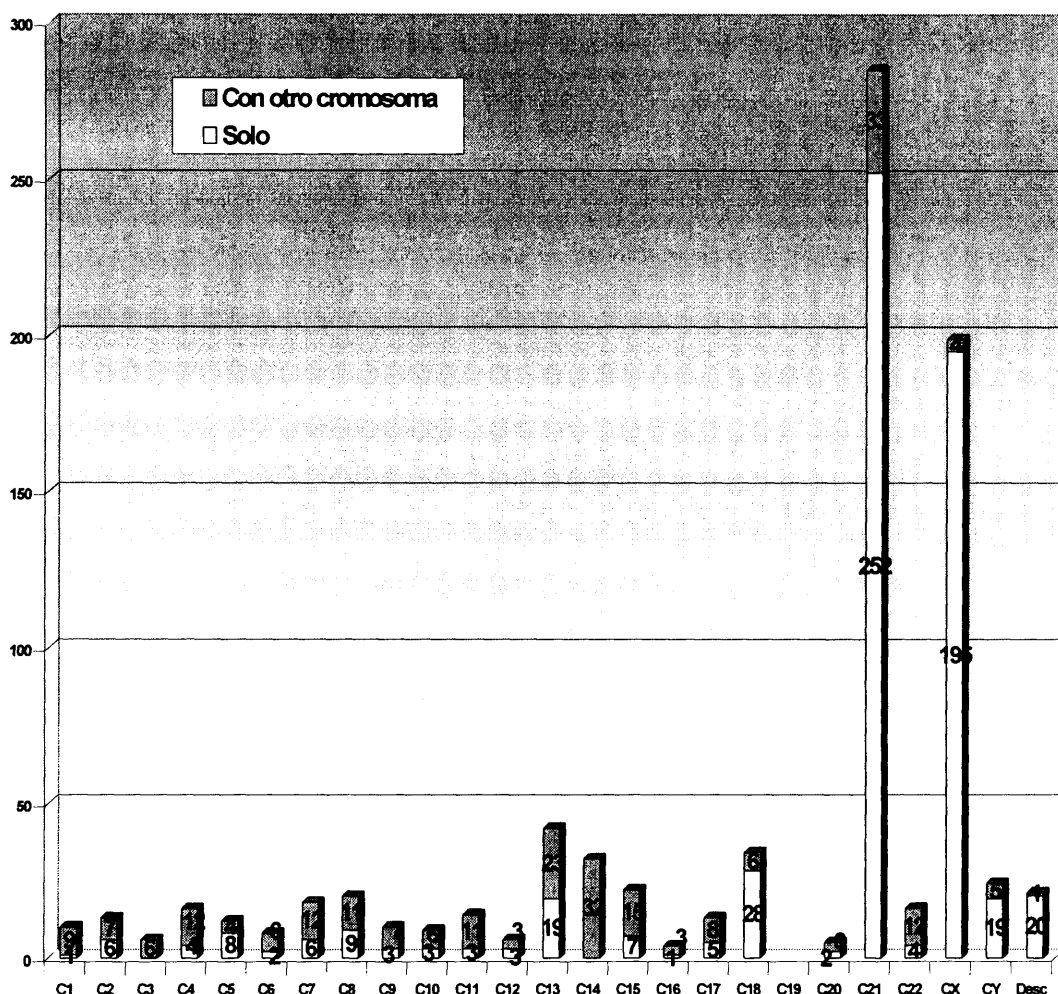
Estudiamos 4437 pacientes adultos, entre los cuales encontramos alteraciones cromosómicas en 338 (7,62%).

En el grupo de 906 pacientes estudiados por presentar alteraciones fenotípicas, existían anomalías cromosómicas en 148 (16,33%). Entre los 742 pacientes con antecedentes familiares de cromosomopatías, en 141 (19%). Entre los 542 individuos con antecedentes familiares de alteraciones fenotípicas de causa no filiada, en 6 (1,11%). Y, entre los 1166 pacientes con abortos de repetición, en 38 (3,26%). Entre los 87 pacientes estudiados por esterilidad de causa desconocida, sin otras alteraciones fenotípicas, no encontramos ningún paciente con cromosomopatía, ni tampoco entre las 116 personas a las que se hizo cariotipo en sangre periférica por haberse observado un heteromorfismo cromosómico en un diagnóstico prenatal citogenético. Entre los 878 controles sanos existían cromosomopatías en 5 (0,57%).

### **D- Cromosomas**

En individuos *propositus* estudiamos la frecuencia en que cada uno de los 24 cromosomas intervenía en las cromosomopatías. Los más frecuentemente implicados fueron el cromosoma 21 y el cromosoma X, le siguieron en frecuencia los cromosomas 13 y 18. En 21 casos no se pudo determinar el cromosoma implicado, ya que fueron estudiados previo a la aparición de las técnicas de FISH y la citogenética convencional no permitió determinar el origen de la alteración cromosómica. Los cromosomas marcadores fueron las cromosomopatías en las que más frecuentemente no pudo determinarse el cromosoma involucrado.

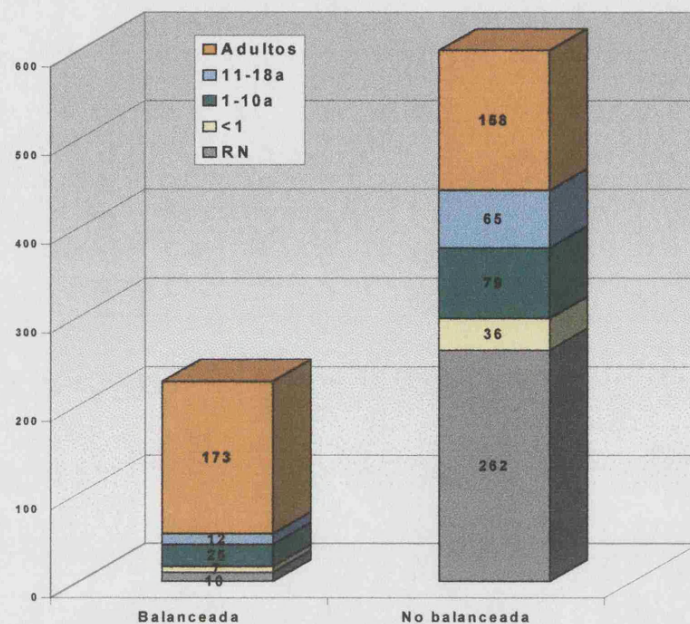
En la figura 3 se muestra la contribución de los diferentes cromosomas a las cromosomopatías.



**Figura 3:** Frecuencia con que cada uno de los 24 cromosomas presentó anomalías. En gris se muestran los casos en los que en la anomalía cromosómica, además de ese cromosoma, intervenían otro u otros. En blanco los casos en los que en la cromosomopatía intervenía sólo un cromosoma. C=cromosoma, RN= recién nacido, <1=menor de 1 año excluido el periodo neonatal, a= año.

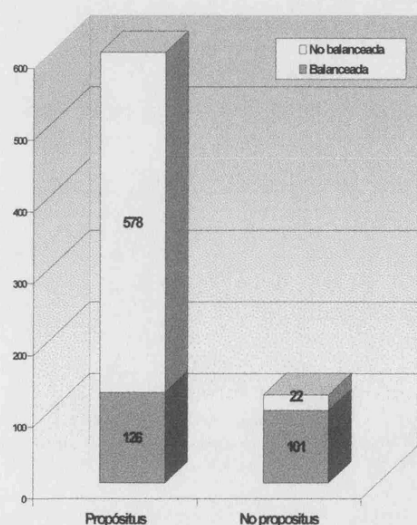
### **E- Anomalías cromosómicas balanceadas y no balanceadas**

Entre los 862 casos de cromosomopatías diagnosticadas, 227 fueron anomalías cromosómicas balanceadas y 600 no balanceadas. El resto de pacientes en los que se encontró un estudio citogenético patológico fueron: 15 individuos cuyo sexo fenotípico no correspondía con el sexo cromosómico (inversión del sexo), 19 pacientes con síndrome de X frágil y un paciente con anemia de Fanconi. Mientras que las alteraciones no balanceadas se diagnosticaron fundamentalmente en niños, las balanceadas se vieron principalmente en la edad adulta. En la figura 4 se muestran las edades de diagnóstico de ambos tipos de cromosomopatías.



**Figura 4:** Edad de diagnóstico de alteraciones cromosómicas balanceadas y no balanceadas. RN= recién nacido, <1=menor de 1 año excluido el periodo neonatal, a= año.

La mayor parte de las cromosomopatías fueron diagnosticadas en pacientes *propositus*. Entre 862 pacientes con alteraciones cromosómicas, 704 fueron pacientes *propositus*, el resto de cromosomopatías se diagnosticaron en familiares del *propositus*. Como se muestra en la figura 5, en los *propositus* la mayoría de las anomalías observadas fueron no balanceadas, mientras que en los familiares la mayor parte fueron balanceadas.

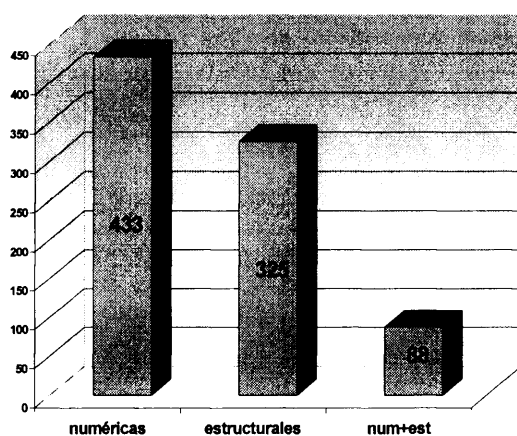


**Figura 5:** Distribución de cromosomopatías balanceadas y no balanceadas en pacientes *propositus* y en familiares.

## **F- Anomalías cromosómicas numéricas y estructurales**

Las anomalías numéricas (433 casos) fueron más frecuentes que las estructurales (325 casos). En 88 pacientes se encontraron simultáneamente alteraciones numéricas y estructurales, bien por existir un cariotipo en mosaico en el que las anomalías numéricas y estructurales estaban en líneas celulares diferentes, bien por tener un cromosoma marcador o bien por tratarse de individuos que presentaban en la misma célula dos cromosomopatías distintas, una estructural y otra numérica.

En la figura 6 se recoge la frecuencia de los diferentes tipos de anomalías cromosómicas.



**Figura 6:** Anomalías cromosómicas numéricas y estructurales vistas en los pacientes estudiados. Num+est=numéricas y estructurales en un mismo paciente.

En pacientes con alteraciones fenotípicas, las cromosomopatías numéricas fueron más frecuentes que las estructurales. Entre 647 pacientes con alteraciones fenotípicas y cariotipo patológico, 422 (65,22%) tenían anomalías numéricas, 142 (21,95%) estructurales y en 67 casos (10,35%) existían anomalías numéricas y estructurales en el mismo paciente; además, en 15 casos se encontró un sexo cromosómico distinto al fenotípico, y en un paciente se detectaron anomalías citogenéticas diagnósticas de anemia de Fanconi.

En pacientes estudiados por ser familiares de individuos con cromosomopatía las alteraciones encontradas fueron principalmente estructurales. Entre 164 pacientes con cariotipo patológico, de los 824 de este grupo, 4 presentaban anomalías numéricas (2,44%), 146 alteraciones estructurales (89,02%) y 14 anomalías numéricas y estructurales (8,54%).

Entre los 562 individuos estudiados por presentar un familiar afecto de anomalías fenotípicas sin filiar, en sólo 7 casos encontramos cariotipo patológico: 2 pacientes tenían

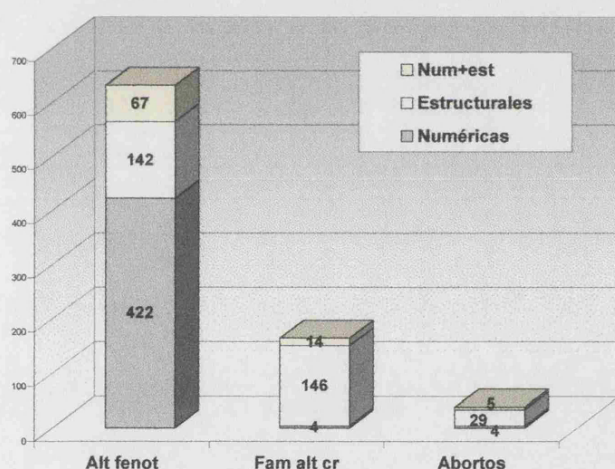


anomalías numéricas, 3 alteraciones estructurales y en 2 casos existían cromosomopatías numéricas y estructurales.

Entre los 1166 pacientes con abortos de repetición, se encontraron anomalías cromosómicas en 38 casos. Las alteraciones fueron en su mayoría estructurales, encontrándose éstas en 29 de los 38 pacientes (76,31%), en 4 pacientes (10,53%) observamos anomalías numéricas y en 5 (13,16%) alteraciones numéricas y estructurales.

Entre los 6 pacientes con fenotipo normal y sin antecedentes familiares en los que encontramos cromosomopatías, en 2 casos las alteraciones observadas fueron numéricas y en 4 estructurales.

En la figura 7 se muestran las cromosomopatías numéricas y estructurales encontradas en los tres principales grupos de pacientes con anomalías cromosómicas estudiados.



**Figura 7:** Anomalías numéricas y estructurales en pacientes con cromosomopatías. Alt fenot: pacientes con alteraciones fenotípicas, fam alt cr: pacientes estudiados por tener un familiar afecto de una anomalía cromosómica, num+est= presencia de anomalías numéricas y estructurales en un mismo paciente.

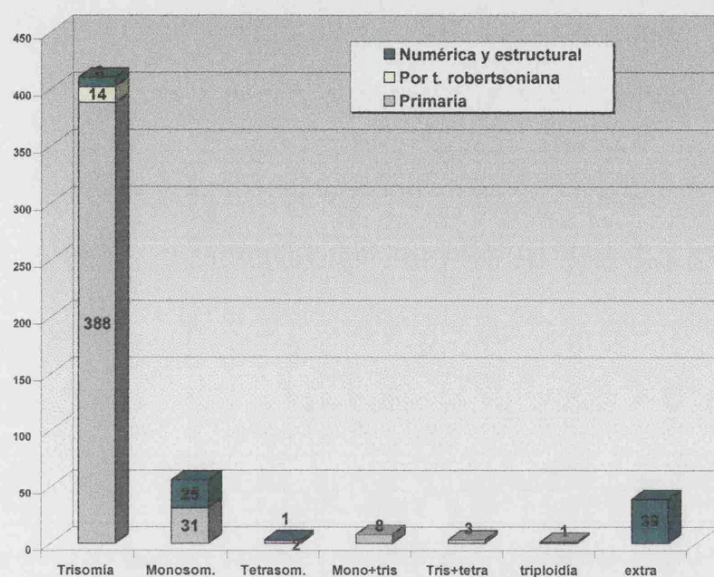
### 1) Anomalías numéricas

Los distintos tipos de anomalías numéricas diagnosticadas en nuestra serie se muestran en la figura 8. La alteración más frecuente fue la trisomía (410 casos como alteración numérica única y 11 en mosaico con otra alteración numérica) seguida, a gran distancia, por la monosomía (56 casos y 8 casos respectivamente) y por los cromosomas extra marcadores (39 casos). El resto de las cromosomopatías numéricas fueron mucho menos frecuentes.

La trisomía en la mayor parte de los pacientes (388) fue primaria y la única alteración cromosómica presente, en 14 casos fue debida a translocación robertsoniana y en 8 pacientes

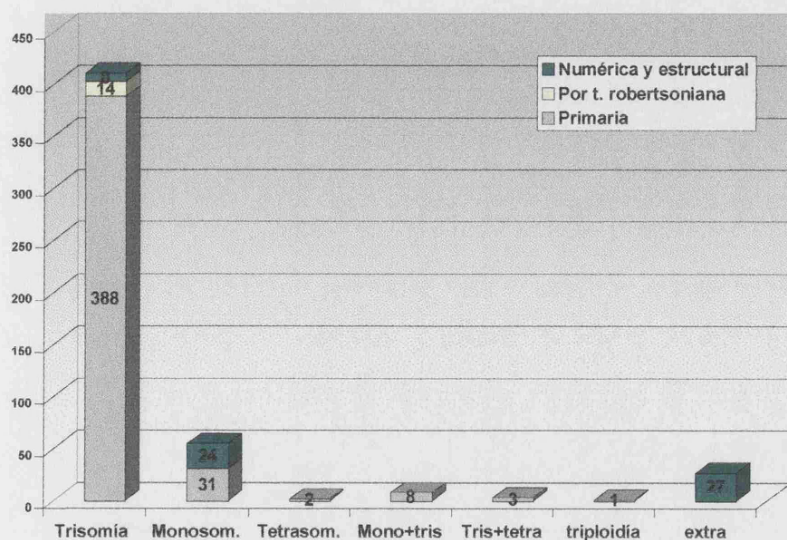
existía una trisomía primaria en mosaico con otra anomalía estructural. En 8 casos se observó una trisomía en mosaico con otra línea celular con monosomía, y en 3 trisomía en mosaico con tetrasomía.

La monosomía como alteración única la vimos en 31 pacientes, en mosaico con trisomía en 8 y en mosaico con una alteración estructural en 25 casos.



**Figura 8:** Anomalías numéricas.  
t.= translocación, monosom.= monosomía, tetrasom = tetrasomía, mono = monosomía, tris = trisomía, extra = cromosoma extra marcador.

Entre pacientes *propositus*, las frecuencias observadas de las diferentes anomalías numéricas se muestra en la figura 9.

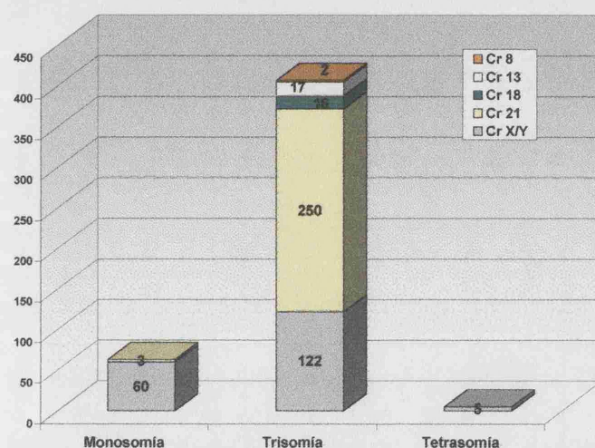


**Figura 9:** Anomalías numéricas en *propositus*.  
T.=translocación, monosom.= monosomía, tetrasom. = tetrasomía, mono = monosomía, tris = trisomía, extra = cromosoma extra marcador.



Las frecuencias observadas en pacientes *propositus* fueron muy similares a las encontradas en el total de pacientes, debido a que las anomalías numéricas generalmente se acompañan de repercusión fenotípica y, por ello, suelen diagnosticarse en *propositus*. La excepción la constituyen los cromosomas extra marcadores, que con relativa frecuencia se ven en individuos con fenotipo normal y que, por ello, se vieron con más frecuencia en el total de pacientes que entre pacientes *propositus*.

Los cromosomas que intervinieron en las anomalías numéricas primarias en pacientes *propositus* se muestran en la figura 10.



**Figura 10:** Cromosomas que intervinieron en las anomalías numéricas primarias en *propositus*. Cr=cromosoma

En las trisomías, el cromosoma más frecuentemente implicado fue el cromosoma 21 seguido de los cromosomas sexuales, mucho menos frecuentes fueron las trisomías de los cromosomas 13, 18 y 8. En las monosomías los cromosomas que intervinieron con más frecuencia fueron los sexuales. Todas las tetrasomías diagnosticadas involucraron a gonosomas.

En las figuras 11a y 11b se muestra un caso de trisomía 8, el paciente mostraba la anomalía cromosómica en mosaico con una línea celular normal.





Figura 11a: Cariotipo con bandeo GTG en un caso de trisomía 8.

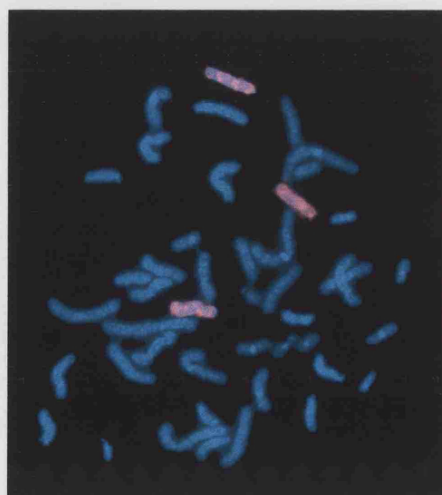
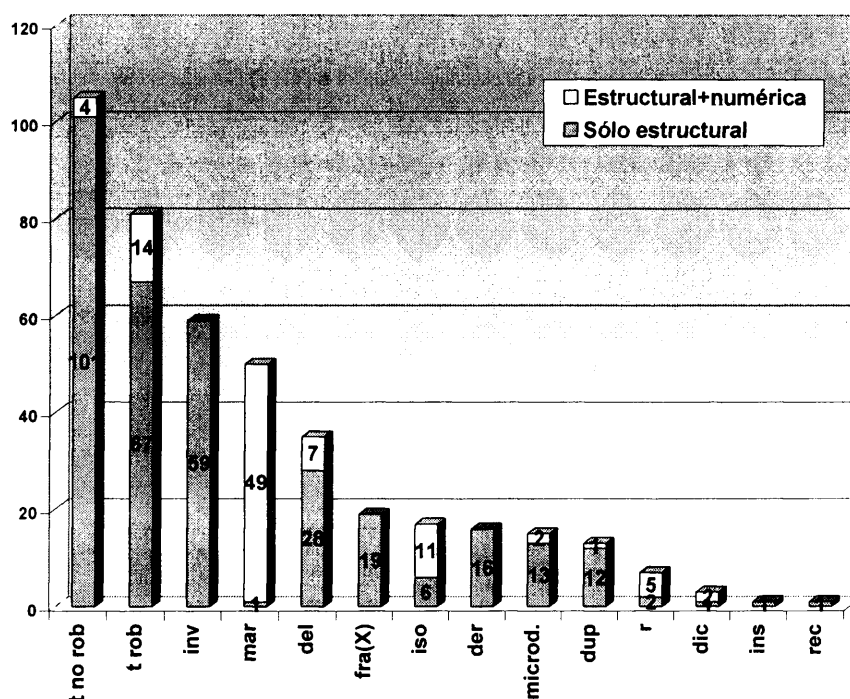


Figura 11b: Metafase con FISH utilizando una sonda WCP para el cromosoma 8 en un caso de trisomía 8.

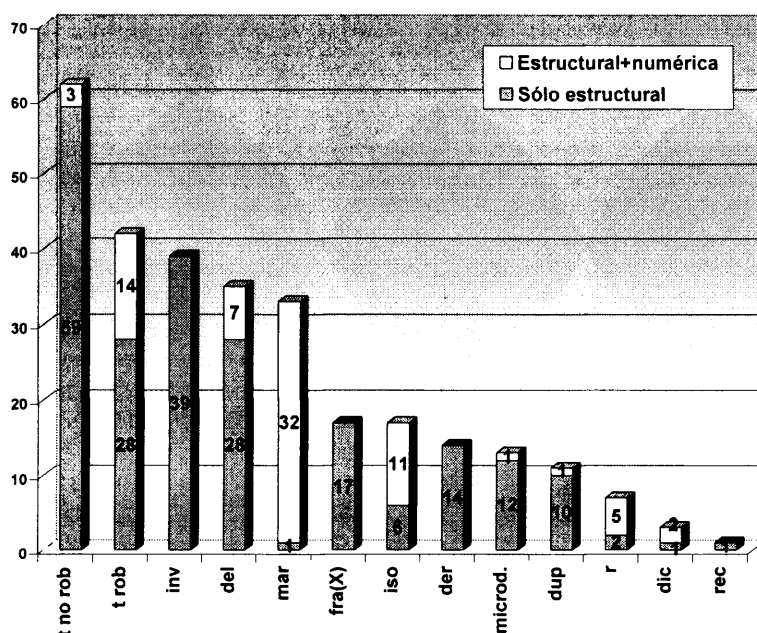
## 2) Anomalías estructurales

Los distintos tipos de anomalías estructurales diagnosticadas en los pacientes estudiados se muestran en la figura 12. Las más frecuentes fueron las translocaciones recíprocas no robertsonianas, seguidas en orden de frecuencia por las translocaciones robertsonianas, las inversiones, los cromosomas marcadores y las deleciones. Otras anomalías estructurales se vieron con mucha menos frecuencia. Entre las microdeleciones se incluyeron sólo los casos diagnosticados a partir de 1997, ya que previamente a esta fecha no estaban disponibles las técnicas de FISH para su detección en el Servicio de Genética del Hospital 12 de Octubre.



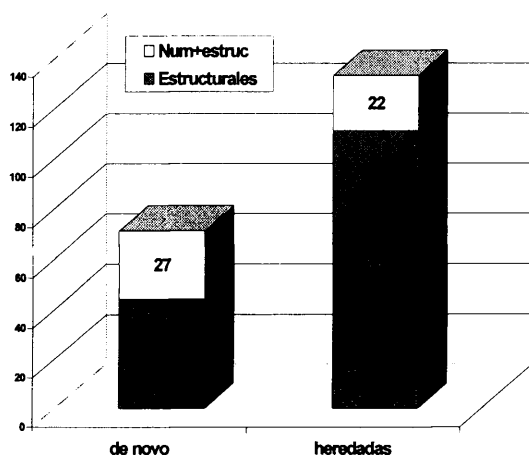
**Figura 12:** Anomalías cromosómicas estructurales. T no rob = translocación no robertsoniana, t rob = translocación robertsoniana, inv = inversión, mar = cromosoma marcador, del = deleción, fra(X) = X frágil, iso = isocromosoma, der = cromosoma derivado, microdel = microdeleción, dup = duplicación, r = anillo, dic = dicéntrico, ins = inserción, rec = recombinante.

Las anomalías estructurales diagnosticadas en pacientes *propositus* se recogen en la figura 13. Las alteraciones más frecuentes fueron las translocaciones no robertsonianas, seguidas de las translocaciones robertsonianas, inversiones, deleciones y cromosomas marcadores. El resto de las anomalías estructurales se vieron con menor frecuencia.



**Figura 13:** Anomalías cromosómicas estructurales en *propositus*. T no rob = translocación no robertsoniana, t rob = translocación robertsoniana, inv = inversión, mar = cromosoma marcador, del = delección, fra(X) = X frágil, iso = isocromosoma, der = cromosoma derivado, microdel = microdelección, dup = duplicación, r = anillo, dic = dicéntrico, ins = inserción, rec = recombinante.

Entre 413 individuos diagnosticados con anomalías estructurales, en 71 casos se trataba de anomalías *de novo* y en 133 pacientes la cromosomopatía había sido heredadas de uno de los dos progenitores (Figura 14), bien presentando el progenitor una alteración balanceada y la descendencia una alteración no balanceada derivada de la anterior, o bien presentando ambos la forma balanceada. En los restantes 209 casos no pudo determinarse el origen de la cromosomopatía, por no disponer de cariotipo de los padres.



**Figura 14:** Origen de la anomalías cromosómicas estructurales.

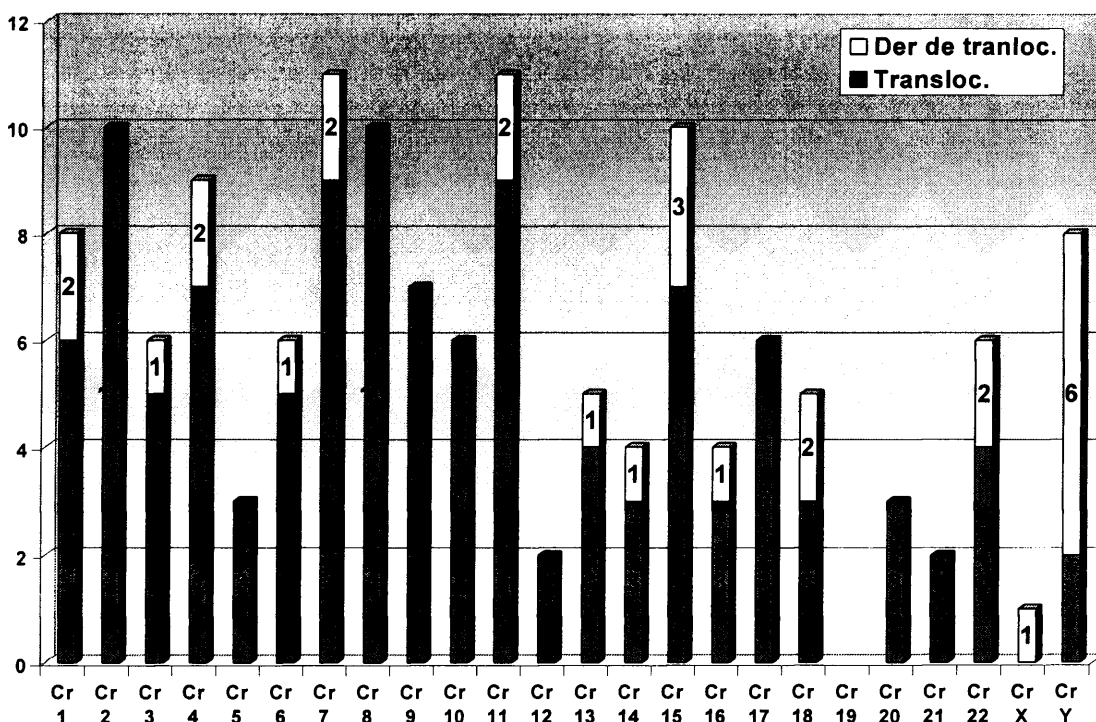
Num+est=anomalías numéricas y estructurales en un mismo paciente.

Entre las anomalías cromosómicas heredadas fue más frecuente el origen materno (69 casos) que el paterno (38 casos). En 26 pacientes no pudo determinarse el origen por no disponer de cariotipo de los padres, aunque se sabía que la anomalía no era *de novo* porque existían más miembros afectados en la familia.

En *propositus* diagnosticamos 288 casos de anomalías estructurales, en 71 de ellos las alteraciones fueron *de novo*, en 65 fueron heredadas de un progenitor (en 34 pacientes el origen fue materno, en 21 paterno y en 10 no pudimos determinar el origen por no disponer de estudio cromosómico de los progenitores ) y en 152 casos no pudo establecerse si la alteración era *de novo* o heredada.

### a) Translocaciones recíprocas

Las cromosomopatías estructurales más frecuentes fueron las translocaciones recíprocas. La participación de los distintos cromosomas en las translocaciones recíprocas balanceadas, y en derivados de translocaciones recíprocas, en pacientes *propositus* se recoge en la figura 15.

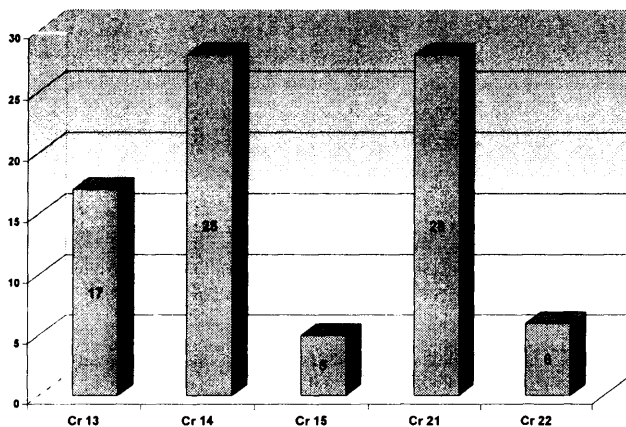


**Figura 15:** Cromosomas que intervinieron en las translocaciones recíprocas. Der de transloc= cromosoma derivado de una translocación, transloc=translocación, cr=cromosoma.

Los cromosomas 7 y 11 fueron los más frecuentemente implicados en ellas, le siguieron los cromosomas 2 y 15. El 19 fue el único cromosoma que no encontramos nunca formando parte de estas translocaciones. En la figura 18 se muestra un caso de translocación recíproca.

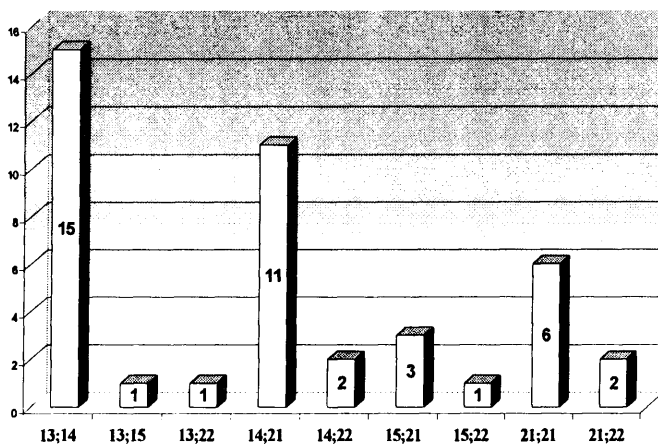
#### b) Translocaciones robertsonianas

Las translocaciones robertsonianas fueron las segundas anomalías estructurales diagnosticadas más frecuentes entre nuestros pacientes. La frecuencia con la que se vieron implicados los distintos cromosomas en las translocaciones robertsonianas en pacientes *propositus* se muestran en la figura 16. Los cromosomas 14 y 21 fueron los que intervinieron más frecuentemente, le siguieron el cromosoma 13 y con menor frecuencia los cromosomas 22 y 15.



**Figura 16:** Frecuencia con la que los cromosomas acrocéntricos se vieron implicados en translocaciones robertsonianas en *propositus*.  
Cr = cromosoma.

La frecuencia con la que encontramos cada una de las translocaciones robertsonianas se muestra en la figura 17. La más frecuente fue la translocación entre los cromosomas 13 y 14, seguida por la translocación entre los cromosomas 14 y 21. Está última fue la translocación robertsoniana más frecuentemente vista en pacientes con síndrome de Down. En la figura 19 se muestra un caso de translocación robertsoniana.



**Figura 17:** Frecuencia de las diferentes translocaciones robertsonianas.

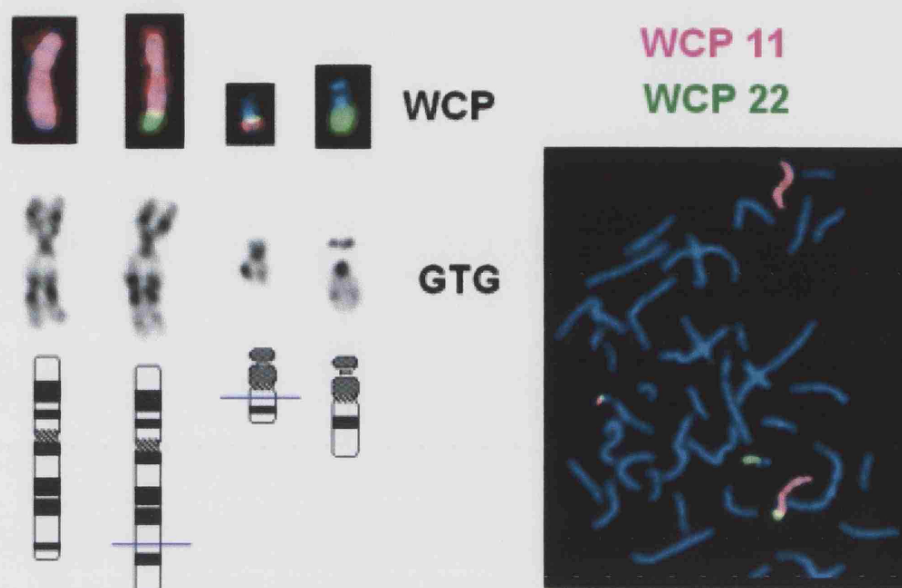


Figura 18: Translocación recíproca entre los cromosoma 11 y 22. WCP=imagen de FISH con sonda "painting" de los cromosomas 11 y 22. La sonda marcada en color rojo corresponde al cromosoma 11 y la marcada en verde al cromosoma 22.

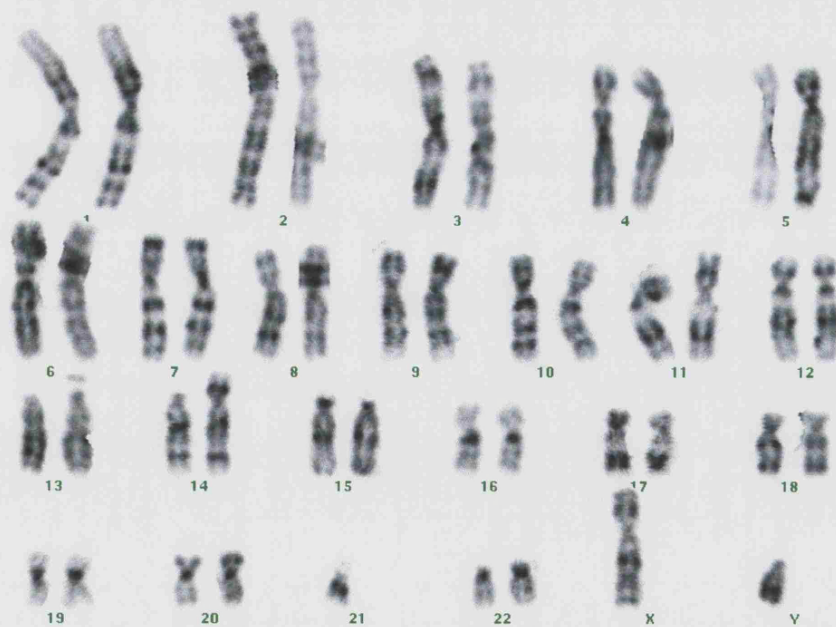
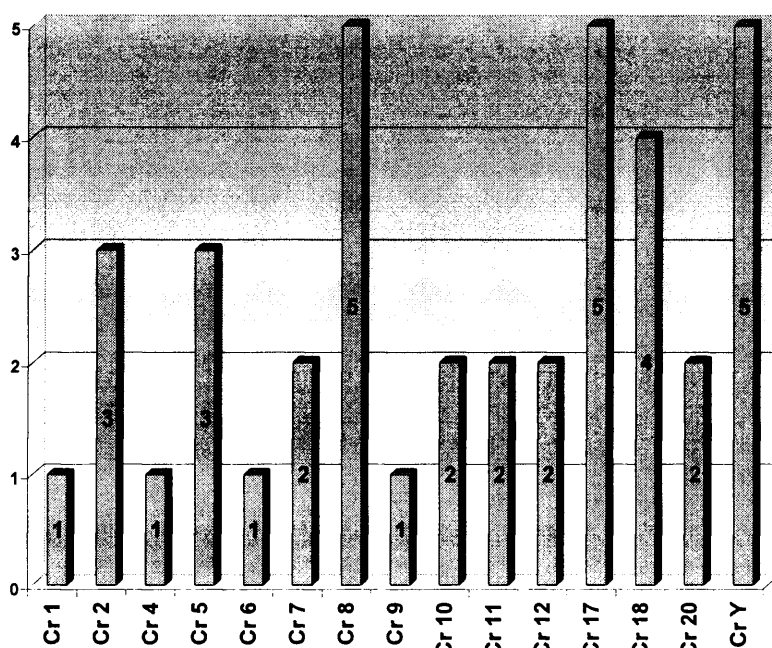


Figura 19: Cariotipo con bandeo GTG de un caso de translocación robertsoniana entre los cromosomas 14 y 21.

### c) Inversiones:

Las frecuencias con la que los distintos cromosomas se vieron implicados en inversiones en pacientes *propósitos* se muestra en la figura 20. Los cromosomas en los que con más frecuencia observamos inversiones fueron el 8, el 17 y el Y. Les siguieron el cromosoma 18 y, a más distancia, los cromosomas 2 y 5. En ningún paciente observamos inversiones que afectaran a los cromosomas 3, 16, 19 ni a los cromosomas acrocéntricos.



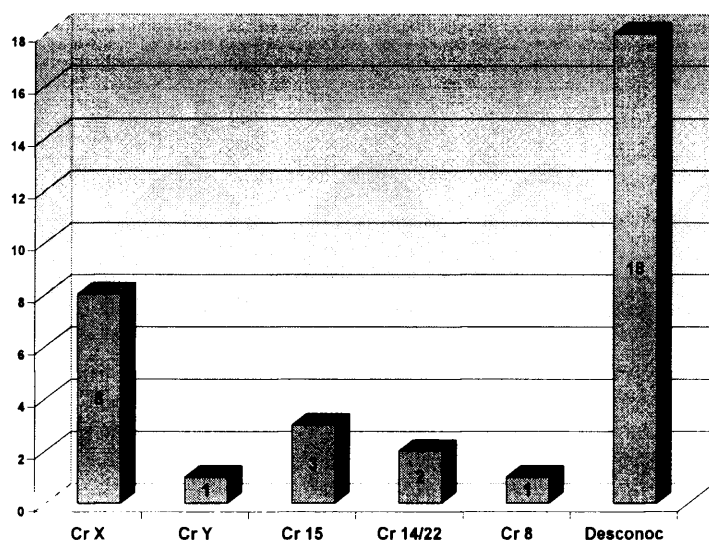
**Figura 20:** Frecuencia con la que los diferentes cromosomas se vieron implicados en inversiones. Cr=cromosoma.

En la figura 22 se muestra un caso de inversión en el cromosoma 10.

### d) Cromosomas marcadores:

Los cromosomas de los que derivaron los cromosomas marcadores diagnosticados en nuestra serie en pacientes *propositus* se muestran en la figura 21. En muchos casos no pudo ser identificado el origen de los cromosomas marcadores, ya que fueron estudiados antes de que estuviesen disponibles las técnicas de FISH. Entre los casos en los que conocíamos el origen, el cromosoma más frecuentemente implicado en la génesis de cromosomas marcadores fue el X. En 2 pacientes encontramos cromosomas marcadores derivados del cr 14 o del 22, no pudiendo

diferenciar cual de los dos era el implicado en cada caso, debido a que la sonda alfa satélite utilizada en el diagnóstico con FISH hibrida en las regiones centroméricas de ambos cromosomas.



**Figura 21:** Frecuencia con la que los distintos cromosomas dieron origen a cromosomas marcadores. Cr = cromosoma. Desconoc = desconocido

En la figura 23 se muestra un caso de cromosoma marcador en el que el estudio con FISH permitió determinar que derivaba de un cromosoma 15.



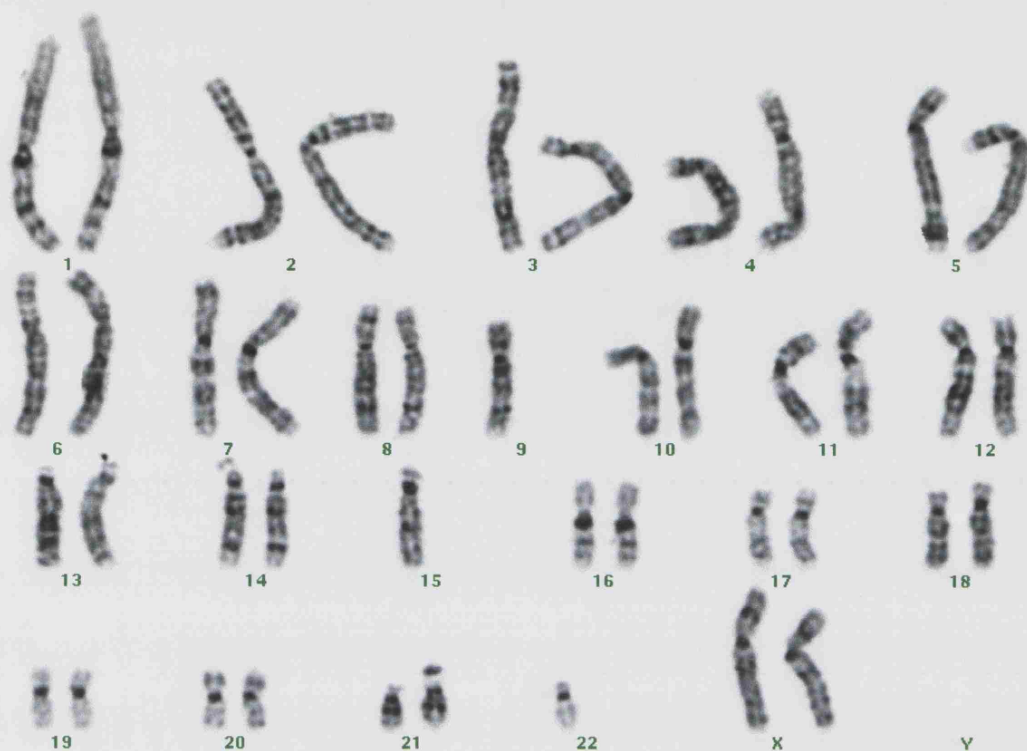


Figura 22: Cariotipo con bandeo GTG de un caso de inversión paracentrica del cromosoma 10.

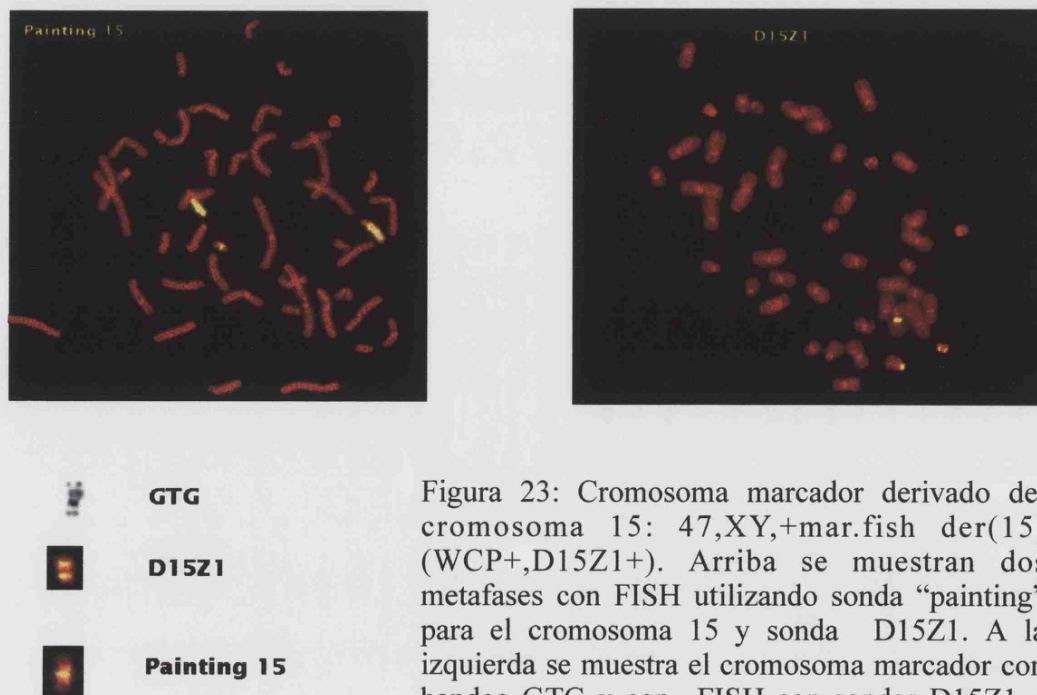
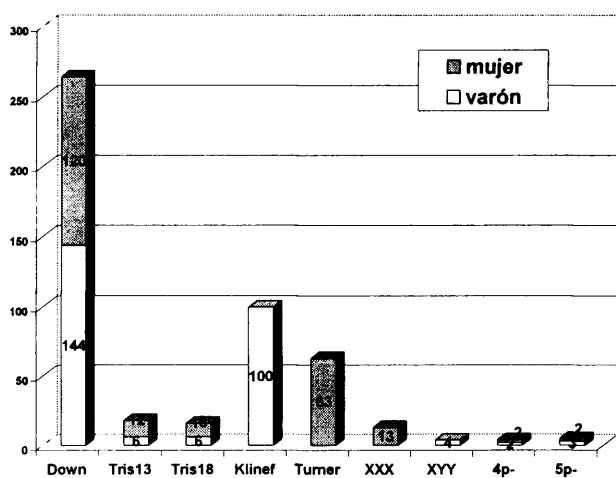


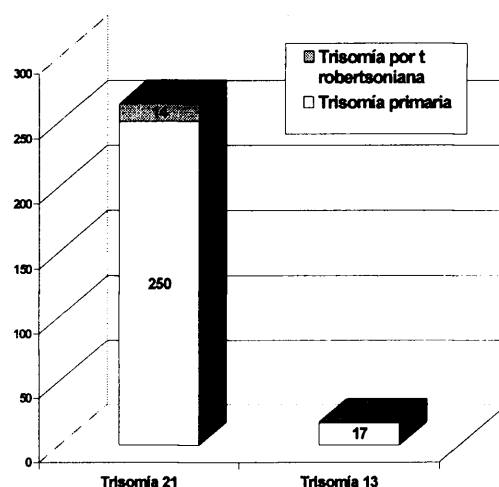
Figura 23: Cromosoma marcador derivado del cromosoma 15: 47,XY,+mar.fish der(15) (WCP+,D15Z1+). Arriba se muestran dos metafases con FISH utilizando sonda "painting" para el cromosoma 15 y sonda D15Z1. A la izquierda se muestra el cromosoma marcador con bandeo GTG y con FISH con sondas D15Z1 y "painting" para el cromosoma 15.

## G- Síndromes cromosómicos

En la figura 24 están recogidas las frecuencias con que encontramos los principales síndromes cromosómicos. El más frecuente fue el síndrome de Down (264 casos), seguido por el síndrome de Klinefelter (100 casos), el síndrome de Turner (63 casos) y las trisomías 13 (18 casos) y 18 (16 casos).



**Figura 24:** Principales síndromes cromosómicos. Tris = trisomía, Klinef = síndrome de Klinefelter.



**Figura 25:** Alteraciones cromosómicas en las trisomías 21 y 13. T = translocación

### 1) Síndrome de Down

Diagnosticamos 264 casos de síndrome de Down, en 250 de ellos existía una trisomía primaria del cromosoma 21, en los 14 restantes la trisomía 21 fue debida a translocaciones robertsonianas (figura 25).

Sólo 4 pacientes con síndrome de Down presentaban la trisomía (en todos ellos primaria) en mosaico con otra línea cromosómica normal. En el resto de los casos, la trisomía estaba presente en línea única.

El síndrome de Down fue más frecuente en varones que en mujeres con una relación 1,2:1.

### 2) Trisomías 13 y 18

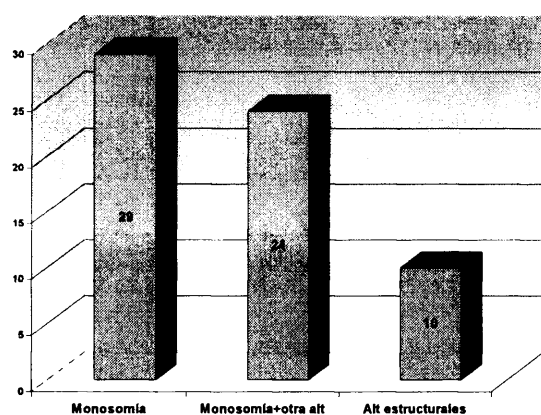
La trisomía 13 fue primaria en 17 casos y en sólo uno se debió a una translocación robertsoniana (figura 25).

No se encontraron mosaicos en ninguno de los 18 pacientes con trisomía 13, ni en ninguno de los 16 casos de trisomía 18 diagnosticados.

Ambas trisomías fueron más frecuentes en mujeres que en varones (figura 24).

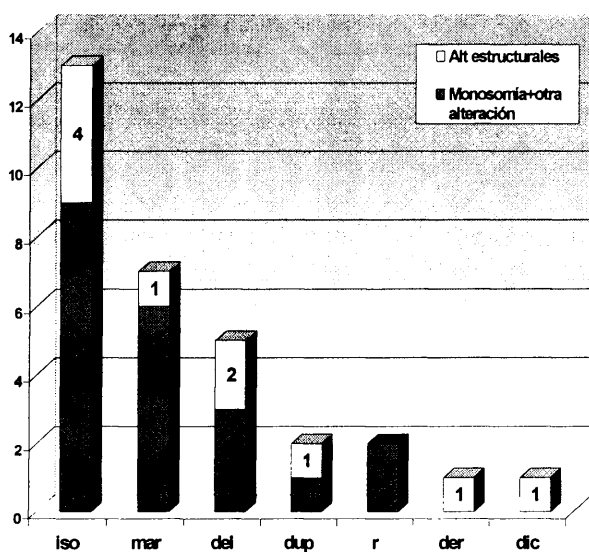
### 3) Síndrome de Turner

En el cariotipo de estas pacientes encontramos una gran variedad de anomalías que afectaban al cromosoma X (Figura 26). La alteración más frecuente fue la monosomía del cromosoma X en línea única o en mosaico con una línea 46,XX (29 casos). Le siguió la monosomía X en mosaico con otra u otras líneas celulares patológicas (24 casos). En 10 pacientes con síndrome de Turner encontramos únicamente anomalías estructurales del cromosoma X.



**Figura 26:** Alteraciones cromosómicas en el síndrome de Turner. Alt = alteración cromosómica

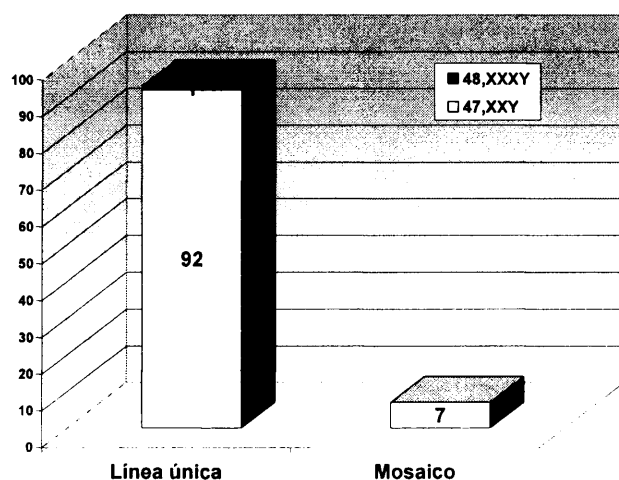
Las anomalías estructurales que observamos en pacientes con síndrome de Turner están recogidas en la figura 27. El isocromosoma de los brazos largos del cromosoma X fue la alteración más frecuente (13 casos) seguida de los cromosomas marcadores (7 casos).



**Figura 27:** Anomalías cromosómicas estructurales en pacientes con síndrome de Turner. Iso = isocromosoma, mar = cromosoma marcador, del= deleción, dup = duplicación, r = anillo, der = derivado, dic = dicéntrico.

#### 4) Síndrome de Klinefelter

Las alteraciones cromosómicas encontradas en pacientes con síndrome de Klinefelter se muestran en la figura 28. El cariotipo en el 92% de los pacientes fue 47,XXY. Un paciente presentaba un cariotipo en línea única 48,XXXY. Las anomalías cromosómicas en mosaico fueron mucho menos frecuentes que en el síndrome de Turner, estuvieron presentes sólo en el 7% de los casos. Uno de los pacientes con cariotipo 47,XXY en línea única presentaba además, en todas las células, una deleción en el brazo corto del cromosoma 4.

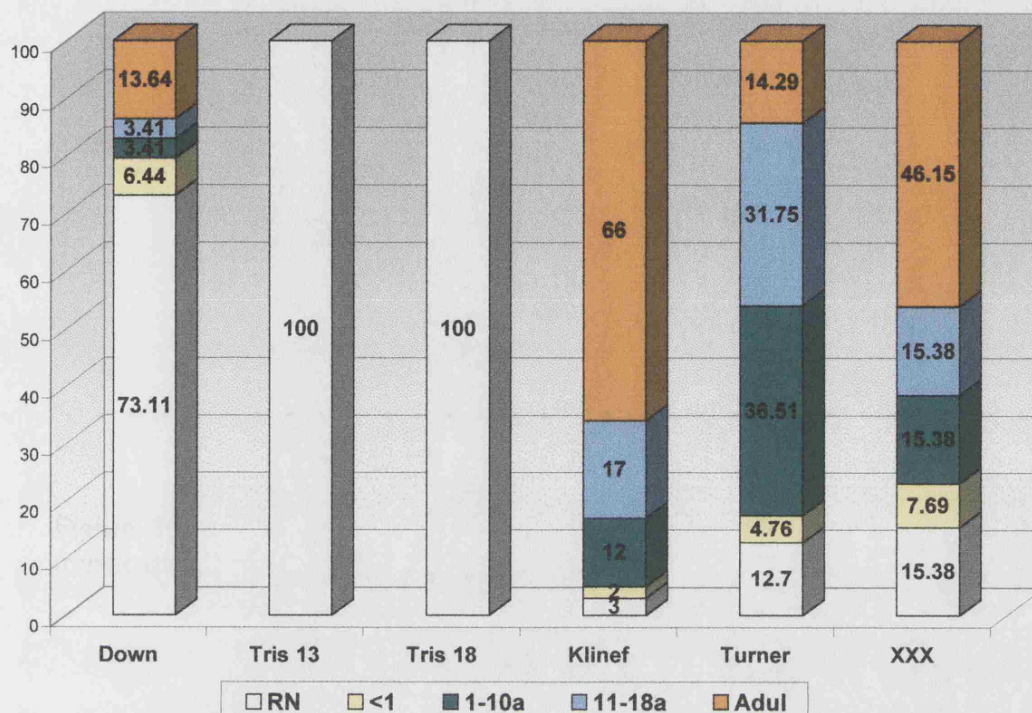


**Figura 28:** Anomalías cromosómicas en el síndrome de Klinefelter

#### 5) Edad de diagnóstico

Las edades a las que se diagnosticaron los principales síndromes cromosómicos se recogen en la figura 29.

Todos los pacientes con trisomía 13 y 18 y el 73,11% de los síndromes de Down se diagnosticaron en el período neonatal. La mayor parte de los casos (66%) de síndrome de Klinefelter y el 46,15% de pacientes con trisomía X se diagnosticaron en la edad adulta. El síndrome de Turner se diagnosticó en el 36,51% de pacientes entre 1-10 años y en el 31,75% entre 10-18 años.



**Figura 29.** Edad de diagnóstico de los principales síndromes cromosómicos expresadas en porcentajes de casos en cada grupo etario. Down= síndrome de Down, Tris=trisomía, Klinef=síndrome de Klinefelter, Turner= síndrome de Turner, XXX=síndrome de triplo X.

## 6) Relación de sexos

Se ha visto que existe una alteración en la proporción de sexos en nacidos vivos con trisomía 21, 18 y 13. Sin embargo, existen importantes diferencias en las relaciones varón/mujer observadas por los diferentes autores.

Nosotros, entre los 264 pacientes estudiados con síndrome de Down, encontramos una proporción varón/mujer de 1,2; entre los 18 pacientes con trisomía 13 de 0,5 y entre los 16 casos estudiados de trisomía 18 de 0,6.

En la figura 30 se muestra el cariotipo de un paciente con síndrome de Down, en la figura 31 de un caso de síndrome de Turner y en la figura 32 de un síndrome de Klinefelter.

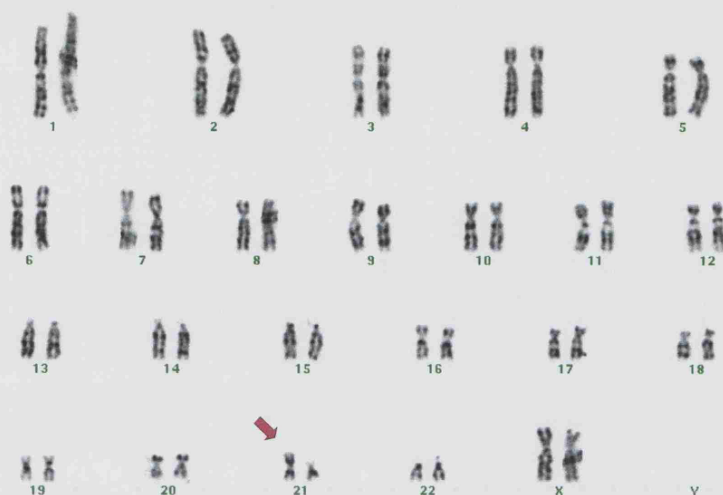


Figura 30: Cariotipo con bandeo GTG de un caso de síndrome de Down con translocación robertsoniana entre dos cromosomas 21

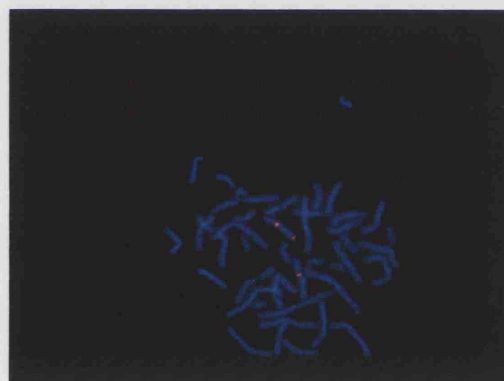


Figura 31: Cromosoma X dicéntrico en una paciente con síndrome de Turner. Metafase con FISH utilizando sonda DXZ1( región centromérica del cromosoma X)



Figura 32: Cariotipo con bandeo GTG de un paciente con una variante de síndrome de Klinefelter (48,XXXY)



## **H- Mosaicismos**

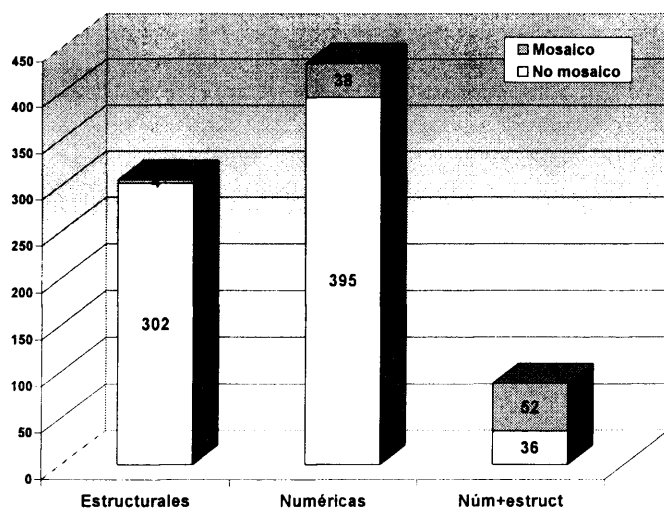
### **1) Mosaicismos en las anomalías numéricas y estructurales**

Las anomalías estructurales se encontraron pocas veces en mosaico. Restando a los 325 casos de anomalías estructurales diagnosticados, los 19 con cromosoma X frágil (ya que en estos pacientes la anomalía citogenética se expresa sólo en un porcentaje de células, aunque la alteración molecular está presente en todas las células) quedan 306 pacientes, entre ellos sólo 4 (1,31%) presentaban la alteración cromosómica en mosaico.

Las cromosomopatías numéricas estuvieron presentes en forma de mosaico en 38 casos (8,77 %) de entre 433.

La presencia de anomalías numéricas y estructurales en un mismo paciente se vieron en forma de mosaico en 52 (59,09%) de entre 88 pacientes. El cromosoma marcador fue la anomalía cromosómica que más frecuentemente se observó en mosaico, en 32 (65,3%) de entre 49 casos .

En la figura 33 se muestra la frecuencia de mosaicismos en las anomalías cromosómicas numéricas y estructurales de nuestra serie.



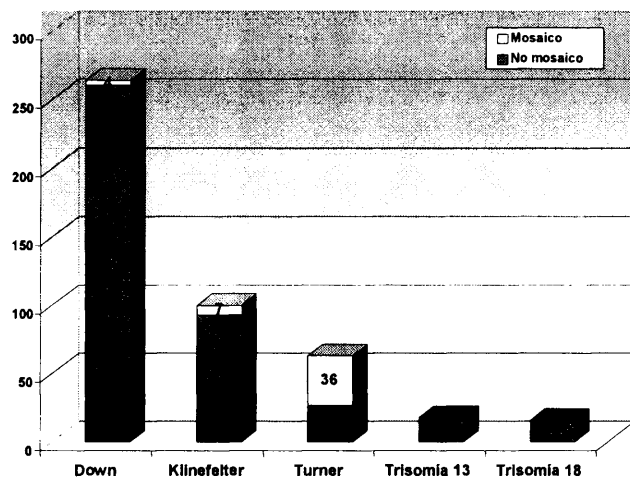
**Figura 33:**  
Mosaicismos en las cromosomopatías.  
Num+est = numéricas y estructurales en un mismo paciente.

### **2) Mosaicismos en los síndromes cromosómicos**

El síndrome que más frecuentemente presentó anomalías en mosaico fue el síndrome de Turner, en 36 (57,14%) de entre 63 pacientes. En el síndrome de Klinefelter 7 casos de entre 100 (7%) tenían alteraciones cromosómicas en mosaico. En pacientes con síndrome de Down

encontramos anomalías en mosaico en sólo el 1,51% de los pacientes (4 de entre 264 casos). Las trisomías 13 y 18 estuvieron presentes siempre en línea única.

En la figura 34 se muestra la frecuencia de anomalías cromosómicas en mosaico en los principales síndromes cromosómicos.

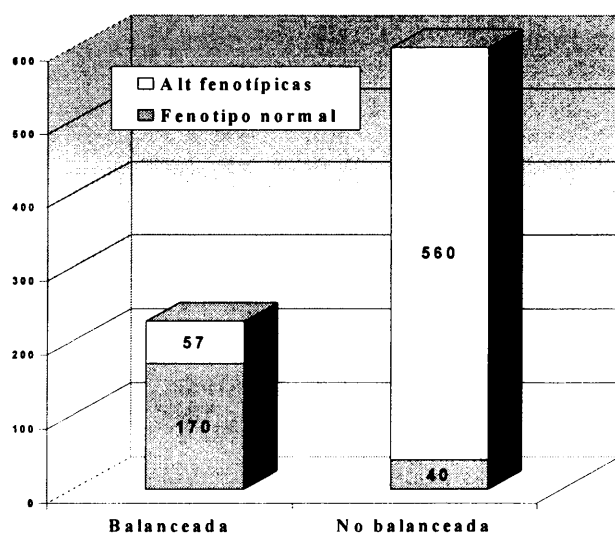


**Figura 34:** Mosaicos en los principales síndromes cromosómicos.



## **II- CROMOSOMOPATÍAS Y ALTERACIONES CLÍNICAS**

Las cromosomopatías no siempre conducen a alteraciones en el fenotipo. Las anomalías cromosómicas balanceadas en la mayor parte de los casos están presentes en individuos con fenotipo normal. Nosotros diagnosticamos cromosomopatías balanceadas en 227 pacientes, entre ellos existían anomalías fenotípicas en 57 (25,1%). La mayor parte de las cromosomopatías no balanceadas tienen repercusión fenotípica; entre los 600 pacientes de nuestra serie con anomalías cromosómicas no balanceadas, 560 (93,3%) presentaban alteraciones en el fenotipo. (Figura 35).

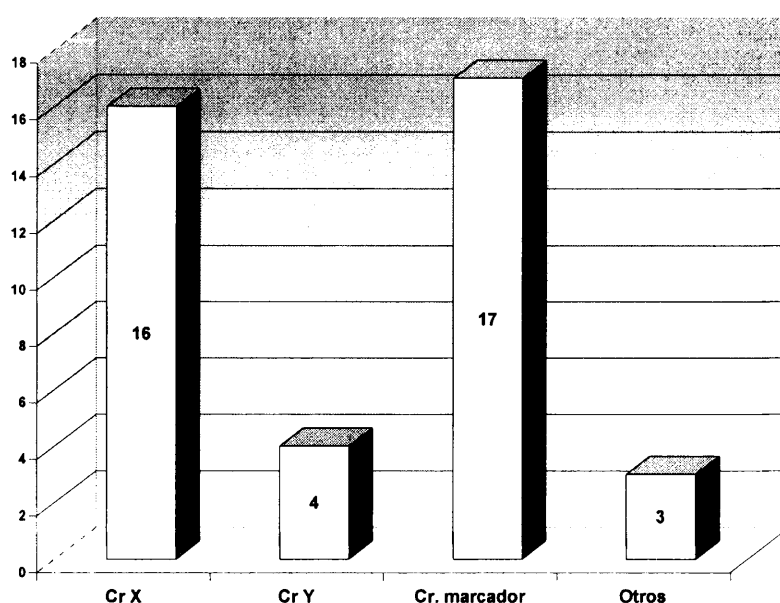


**Figura 35:** Alteraciones fenotípicas en pacientes con anomalías cromosómicas. Alt = alteraciones.

### **A- Cromosomopatías en individuos con fenotipo normal**

En nuestra serie el 74,9% (170/227) de los individuos portadores de cromosomopatías balanceadas no tenían alteraciones fenotípicas. Además, un 6,7% (40/600) de los pacientes con anomalías cromosómicas no balanceadas presentaban un fenotipo normal (Figura 36); en la mayor parte de ellos existían alteraciones en los cromosomas sexuales [en 16 pacientes anomalías estructurales y/o numéricas diversas en el cromosoma X, en su mayoría presentes en mosaico; 2

casos cromosomas derivados de translocaciones entre los cromosomas 15 e Y, que suponían sólo un exceso de heterocromatina distal del cromosoma Y; un individuo con cariotipo 47,XYY (Figura 37 a) y un paciente con una delección de la mayor parte del brazo largo del cromosoma Y en mosaico (figura 37 b)] o pequeños cromosomas marcadores (17 casos). Además, en 3 pacientes encontramos anomalías cromosómicas con pérdida o ganancia de eucromatina de cromosomas autosómicos (un caso con una duplicación de la banda p11 del cromosoma 18, otro con una duplicación en el brazo corto del cromosoma 16, y, por último, un paciente con monosomía 21 en mosaico en el 14% de las células).



**Figura 36:** Cromosomas implicados en las anomalías cromosómicas no balanceadas con fenotipo normal. Cr=cromosoma, cr. marcador=cromosoma marcador de origen desconocido o derivado de un cromosoma autosómico.

## **B- Cromosomopatías en pacientes con alteraciones en el fenotipo**

La mayor parte (93,3%) de pacientes con anomalías cromosómicas no balanceadas presentaban alteraciones en el fenotipo. Además, en el 25,11% de los casos las cromosomopatías balanceadas se acompañaron de anomalías fenotípicas; estas alteraciones en el fenotipo no pueden, en muchos casos, atribuirse a las anomalías cromosómicas, ya que también en pacientes con cariotipo normal existen anomalías fenotípicas.

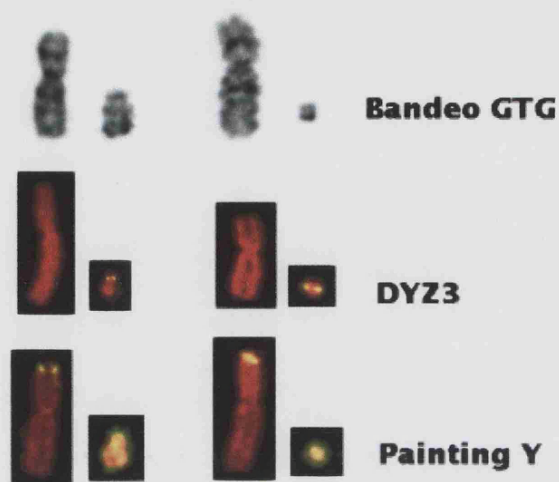
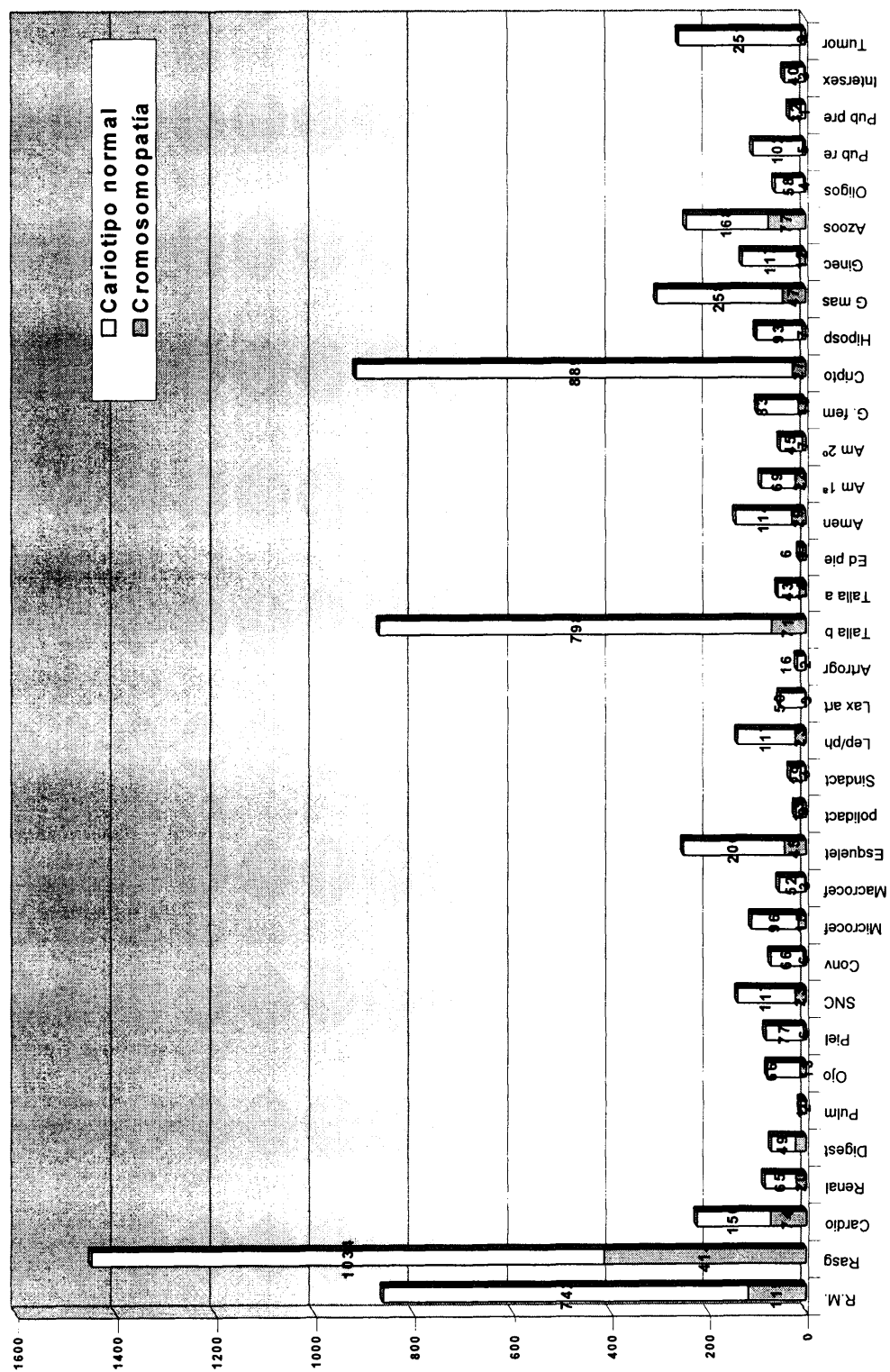


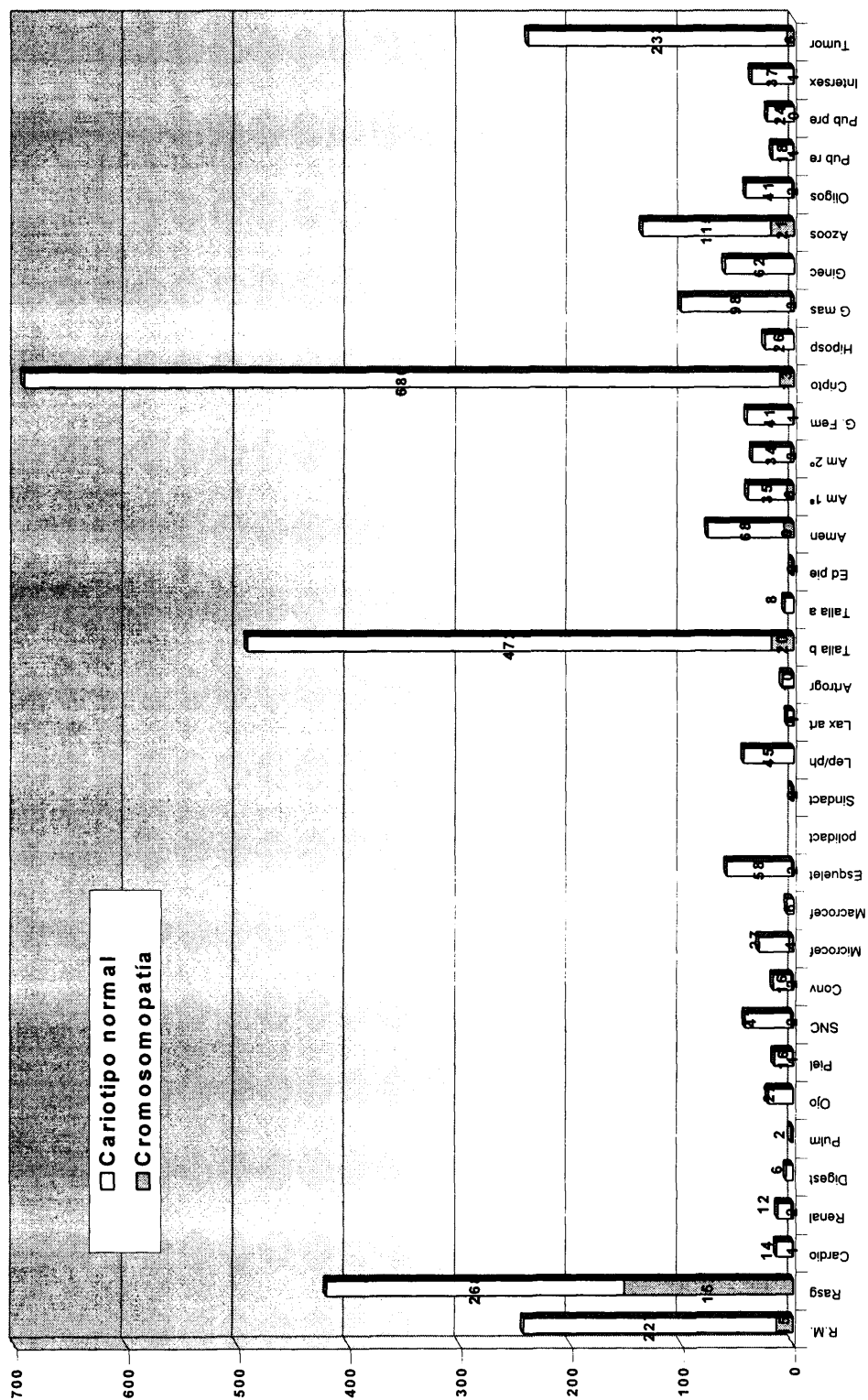
Figura 37a: Cromosomas X e Y en un paciente con una deleción en mosaico del cromosoma Y. Los cromosomas de la izquierda corresponden a las células sin la deleción y en los de la derecha se observa el cromosoma Y deleciónado. Las imágenes corresponden de arriba a abajo a bandeo GTG, FISH con sonda DYZ3 y FISH con sonda "painting" para el cromosoma Y.



Figura 37b: Cariotipo 47,XYY con bandeo GTG



**Figura 38** : Alteraciones fenotípicas observadas y cariotipo en cada una de ellas. RM=retardo mental, rasg=rasgos fenotípicos, Cardio=cardiopatía, renal= anomalias renales, digest=anomalias digestivas, pulm= anomalias pulmonares, ojo=alteraciones oculares, piel=alteraciones cutáneas, SNC= alteraciones en sistema nervioso central, conv=convulsiones, tumor=patología neoplásica, microcef=microcefalia, macrocef=macrocefalia, esquelet= anomalias esqueléticas, polidact=polidactilia, sindact=sindactilia, lep/ph=labio leporino y/o paladar hendido, lax art=laxitud articular, artrogr=artrogriposis, b=baja, tb+af=alta baja con antecedentes familiares, a=alta, ed=edema del dorso del, amen=amenorrea, am 1ª=amenorrea primaria, am 2ª=amenorrea secundaria, g fem=anomalias en genitales femeninos, g= criptorquidia, hiposp=hipospadias, g mas=otras anomalías en genitales masculinos, ginec=ginecomastia, azoos=azoospermia, oligos=oligospermia, intersex=fenotipo intersexual.



**Figura 39:** Pacientes con una sola alteración fenotípica. RM=retardo mental, rasg=rasgos fenotípicos, Cardio=cardiopatía, renal= anomalias renales, digest=anomalias digestivas, pulm= anomalias pulmonares, ojo=alteraciones oculares, piel=alteraciones cutáneas, SNC= alteraciones en sistema nervioso central, conv=convulsiones, tumor=patología neoplásica, microcef=microcefalia, macrocef=macrocefalia, esquelet= anomalias esqueléticas, sindact=sindactilia, lep/ph=labio leporino y/o paladar hendido, lax art=laxitud articular, artrogr=artrogrupos, b=baja, tb+af=talla baja con antecedentes familiares, a=alta, ed=edema del dorso del, amen=amenorrea, am 1º=amenorrea primaria, am 2º=amenorrea secundaria, g fem=anomalias en genitales femeninos, cripto= criptorquidia, hiposp=hipospadias, g mas=otras anomalias en genitales masculinos, oligos=oligospermia, intersex=fenotipo intersexual.

	Alt. totales		Asociada a otras alt.		Alt. aislada	
	Total	% con cr	Total	% con cr	Total	% con cr
Retraso mental	861	13,82%	619	16,80%	242	6,19%
Rasgos	1448	28,59%	1028	25,49%	420	36,19%
Cardiopatía	224	33,04%	209	34,93%	15	6,66%
Alt. renales	85	23,52%	71	25,35%	14	14,28%
Alt. digestivas	71	30,9%	65	33,85%	6	0%
Alt. pulmonares	12	16,67%	10	20%	2	0%
Alt. oculares	79	16,45%	57	22,81%	22	0%
Alt. piel	83	7,23%	66	7,58%	17	5,88%
Alt. SNC	140	16,42%	97	21,65%	43	4,65%
Convulsiones	72	8,33%	54	7,41%	18	11,11%
Microcefalia	111	13,51%	80	13,75%	31	12,9%
Macrocefalia	55	5,45%	49	6,12%	6	0%
Alt. esqueléticas	251	17,92%	191	22,51%	60	3,33%
polidactilia	21	38,09%	21	38,09%	0	0%
Sindactilia	32	9,37%	30	10%	2	0%
Labio lep/p hen	140	16,42%	95	24,21%	45	0%
Hiperlax. articular	53	5,6%	47	4,25%	6	16,66%
Artrogriposis	18	11,11%	8	11,11%	10	0%
Talla baja	869	8,17%	377	13,53%	492	4,06%
Talla alta	57	24,56%	49	28,57%	8	0%
Edema d pie	13	53,84%	11	63,64%	2	0%
Amenorrea	143	20,27%	66	30,30%	77	11,68%
Amenorrea 1ª	91	24,17%	50	32%	41	14,63%
Amenorrea 2º	52	13,46%	15	26,66%	37	8,1%
Alt. genit fem	98	15,31%	56	25%	42	2,38%
Criptorquidia	916	2,94%	223	6,28%	693	1,87%
Hipospadias	100	7%	74	9,46%	26	0%
Otras alt g mas	305	14,4%	204	21,57%	101	2,97%
Ginecomastia	129	9,3%	67	17,91%	62	0%
Azoospermia	245	31,42%	109	51,38%	136	15,44%
Oligospermia	62	6,45%	19	10,53%	43	4,65%
Pubertad retras.	107	4,67%	88	4,53%	19	5,26%
Pubertad precoz	33	3,03%	9	11,11%	24	0%
Intersexos	43	6,98%	5	40%	38	2,63%
Tumor	260	3,46%	21	14,28%	239	2,51%

**Tabla 1.** Anomalías cromosómicas en pacientes con alteraciones fenotípicas Alt=alteraciones, % con cr=porcentaje de pacientes con alteraciones cromosómicas, labio lep/p hen= labio leporino y/o paladar hendido, hiperlax =hiperlaxitud, T baja+ant fam= talla baja con antecedentes familiares, d=del dorso del, 1ª=primaria, 2ª=secundaria, genit fem= genitales femeninos, g mas= genitales masculinos, retras=retrasada..

En las figuras 38 y 39 y en la tabla 1 se recogen las diversas alteraciones fenotípicas encontradas en los pacientes estudiados y la frecuencia observada de cromosomopatías en cada una de ellas. En la figura 38 se muestran los resultados en el total de pacientes y en la figura 39 los casos en los que la alteración se presentaba como única anomalía fenotípica. En la tabla 1 se recogen las frecuencias encontradas en el total de pacientes, en los casos en los que la anomalía fenotípica estaba asociada a otras alteraciones y en los que la anomalía fenotípica se presentaba de forma aislada.

### **1) Retraso mental**

Se estudiaron 861 pacientes con retraso mental, encontrándose cromosomopatías en 119 (13,82%). Entre estos 119 pacientes, 56 eran individuos con síndrome de Down, 13 con síndrome de X frágil (figura 40) y en el resto se observaron una gran variedad de anomalías cromosómicas. En 242 pacientes el retraso mental fue la única anomalía fenotípica observada, en sólo 15 de ellos (6,19%) encontramos alteraciones cromosómicas.

### **2) Rasgos fenotípicos**

Incluimos en este apartado la presencia de alteraciones fenotípicas tales como la inclinación de hendiduras palpebrales, hipertelorismo, orejas de implantación baja, cuello corto, etc.

Estuvieron presentes en 1448 pacientes, entre los cuales encontramos alteraciones en el cariotipo en 414 (28,59%). Entre estos 414 individuos la mayor parte (264 casos) eran pacientes con síndrome de Down. Excluyendo del recuento a estos 264 pacientes, nos quedan 1184 individuos con rasgos fenotípicos, de los cuales 150 (12,66%) tenían cariotipo patológico.

La presencia de rasgos fenotípicos sin ninguna otra alteración la observamos en 420 casos, en 152 de ellos (36,19%) encontramos cromosomopatías. Entre los individuos con rasgos fenotípicos como alteración fenotípica aislada, si excluimos los casos con síndrome de Down restan 268 pacientes, de los cuales sólo 10 (3,7%) presentaban alguna cromosomopatía.

Además, 323 pacientes fueron estudiados por presentar rasgos sospechosos de síndrome de Down, en 264 de ellos (81,73%) encontramos trisomía del cromosoma 21 y en el resto existía un cariotipo normal.



Figura 40: Imagen en metafase de un caso de síndrome de X frágil. Con la flecha se indica el cromosoma X con la región frágil.

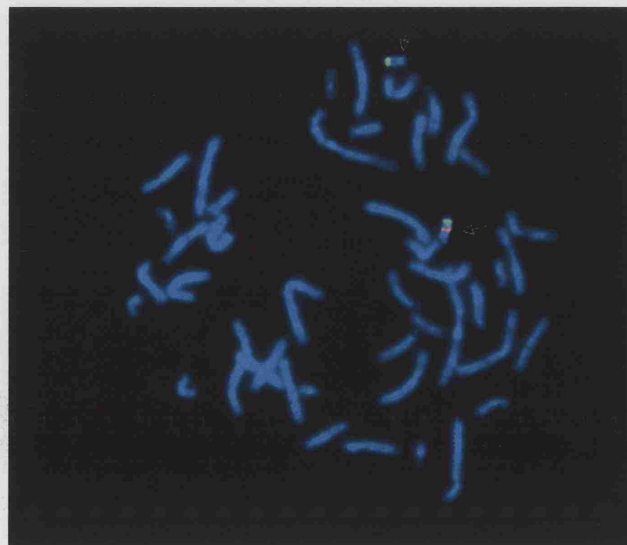


Figura 41: Metafase con FISH utilizando una sonda específica para 22q11.2 (color rojo) en la que se observa una microdelección en dicha región (en uno de los cromosomas 22 está ausente la región 22q11.2).



### **3) Cardiopatía**

Estuvo presente en 224 pacientes, en 74 de ellos (33,04%) encontramos anomalías cromosómicas. La principal causa cromosómica de cardiopatía fue el síndrome de Down (33 casos) seguida de las trisomías 13 (9 casos) y 18 (7 casos), el cuarto puesto lo ocupó el síndrome de Williams (4 casos), el quinto las microdeleciones en 22q11 (3 casos) (figura 41) y el sexto el síndrome de Turner (2 casos).

Entre los 15 pacientes en los que la cardiopatía era la única alteración fenotípica sólo uno presentaba cromosomopatía, se trataba de un paciente con una inversión pericéntrica del cromosoma 8.

### **4) Anomalías renales**

Estudiamos 85 pacientes con anomalías renales, 20 de ellos (23,52%) tenían alteraciones en el cariotipo. En 3 pacientes encontramos trisomía 21, en otros 3 síndrome de Turner, en 2 trisomía 18, en otros 2 deleción del brazo corto del cromosoma 18 y en el resto de pacientes se observaron anomalías cromosómicas diversas entre las que destacamos una microdeleción en 22q11.2 y un paciente con síndrome de WARG con una deleción en 11p12-13.

Como alteración aislada vimos anomalías renales en 14 casos, de los cuales 2 presentaron cariotipo patológico.

### **5) Anomalías en el aparato digestivo**

Estudiamos 71 pacientes con estas anomalías, en 22 de ellos (30,9%) encontramos alteraciones en el cariotipo. Entre estos 22 pacientes 14 estaban afectados de síndrome de Down y en el resto observamos cromosomopatías diversas.

Entre los 6 pacientes que presentaban las anomalías digestivas como única alteración fenotípica no encontramos ninguno con cariotipo patológico.

### **6) Alteraciones pulmonares**

Estuvieron presentes en 12 pacientes, 2 de ellos con cromosomopatía. Un paciente presentaba un cromosoma derivado de una translocación (7;13) y el otro un derivado de una translocación (11;12).

Alteraciones pulmonares aisladas vimos en sólo 2 pacientes, ninguno de ellos con cariotipo alterado.

### **7) Anomalías oculares**

Las encontramos en 79 pacientes, en 13 de ellos (16,45%) existían anomalías cromosómicas. Entre los 13 pacientes con cariotipo patológico, 6 casos correspondían a recién nacidos con trisomía 13 y microftalmía, el resto de pacientes presentaba anomalías cromosómicas diversas.

Los 22 pacientes con alteraciones oculares aisladas tenían todos cariotipo normal.

### **8) Anomalías en piel**

Estudiamos 83 pacientes con alteraciones cutáneas, en 6 de ellos (7,23%) existía cromosomopatía. Las alteraciones cromosómicas fueron distintas en cada caso.

Sólo 1 de los 17 pacientes en los que la alteración en la piel era la única anomalía fenotípica presentaba cariotipo patológico. Se trataba de un paciente con una micosis fungoide y un cariotipo en mosaico en el que en el 20% de las células analizadas existía un cromosoma marcador de origen desconocido.

### **9) Alteraciones en el sistema nervioso central**

Se encontraron en 140 pacientes, en 23 de ellos (16,42%) se hallaron anomalías cromosómicas. Entre estos 23 pacientes, en 13 existía trisomía 13, en 3 pacientes trisomía 18 y en el resto anomalías cromosómicas diversas.

En sólo 2 de los 43 pacientes (4,65%) con anomalías aisladas en el sistema nervioso central se vio cariotipo patológico.

### **10) Convulsiones**

Setenta y dos pacientes del estudio sufrían crisis convulsivas, en 6 de ellos (8,33%) encontramos cromosomopatías. Entre estos 6 pacientes, en 2 casos, ambos de sexo femenino, encontramos un cromosoma 15, derivado de una translocación (15;Y), en el que existía heterocromatina distal del brazo largo del cromosoma Y translocada al brazo corto del cromosoma 15.

Entre los 18 individuos que presentaban convulsiones como única alteración clínica existían anomalías cromosómicas en 2: en un caso una inversión pericéntrica del cromosoma 18 y en el otro un cromosoma 15 derivado de una translocación (15;Y).

### **11) Microcefalia**

Entre 111 pacientes con microcefalia encontramos cromosomopatías en 15 (13,51%). Cuatro estaban afectos de trisomía 18, en el resto existían anomalías cromosómicas diversas.

Entre 31 casos de microcefalia aislada observamos anomalías cromosómicas en 4 (12,9%).

#### **12) Macrocefalia**

Se excluyeron de este apartado los pacientes con hidrocefalia, que fueron estudiados con las alteraciones del sistema nervioso central. Se observó macrocefalia en 55 pacientes, 3 de ellos (5,45%) presentaban anomalías cromosómicas que fueron distintas en cada caso.

En 6 pacientes la macrocefalia existía como alteración fenotípica aislada, en ninguno de ellos se observaron cromosomopatías.

#### **13) Anomalías esqueléticas**

De este apartado se excluyeron el paladar hendido y la polidactilia, que se estudiaron en otro apartado. Tampoco se incluyeron anomalías menores como braquidactilia, escoliosis, etc.

Se observaron anomalías esqueléticas mayores en 251 pacientes, de los cuales 45 (17,92%) presentaban alteraciones en el cariotipo, que fueron diversas.

En 60 pacientes las manifestaciones esqueléticas suponían la única alteración fenotípica presente, en 2 de ellos (3,33%) se observaron cromosomopatías.

#### **14) Polidactilia**

Se estudiaron 21 pacientes con polidactilia de los que 8 (38,09%) presentaron alteraciones en el cariotipo. Entre ellos, 5 pacientes presentaban trisomía 13 y en el resto distintas alteraciones cromosómicas.

En ningún caso se encontró la polidactilia como anomalía fenotípica aislada.

#### **15) Sindactilia**

Estaba presente en 32 individuos, 3 de ellos (9,37%) con alteraciones en el cariotipo que fueron distintas en cada caso. La sindactilia se presentó como anomalía aislada en sólo 2 pacientes, ambos con estudio citogenético normal.

#### **16) Paladar hendido y /o labio leporino**

Se estudiaron 140 pacientes con esta alteración fenotípica, encontrándose en 23 casos (16,42%) alteraciones en el cariotipo. Entre estos 23 pacientes, en 14 existía trisomía 13 y en el resto alteraciones cromosómicas diversas [dos casos de delección en 4p, un paciente con síndrome de Down, otro con delección en 5p, otro con un cromosoma 13 derivado de una translocación (7;13), un caso de cromosoma 18 en anillo (figuras 42 a y b), otro de trisomía 18, un paciente con

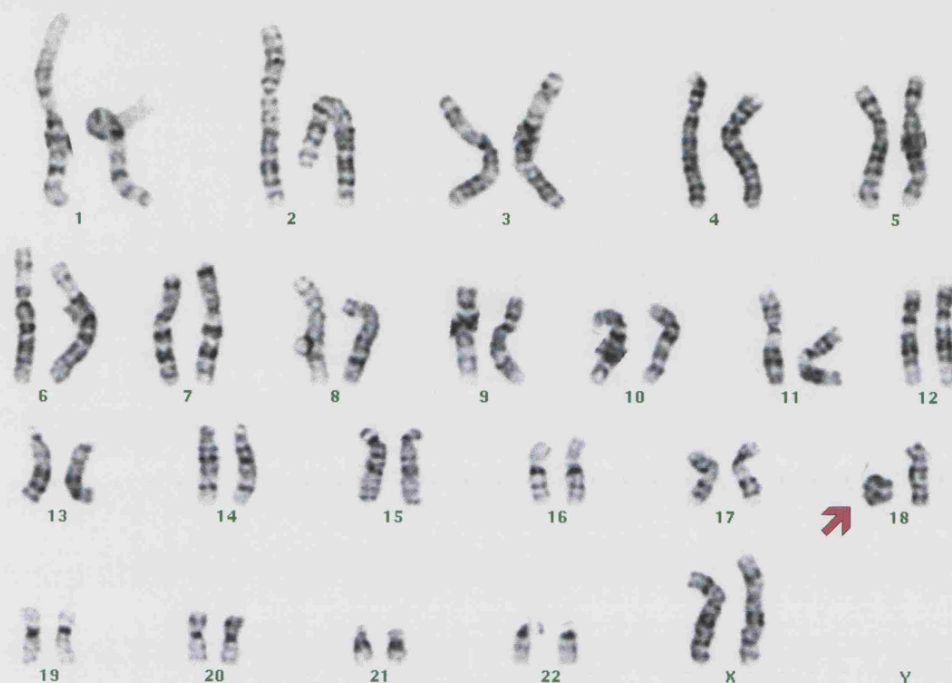


Figura 42a: Cariotipo con bandeo GTG de un paciente con un cromosoma 18 en anillo

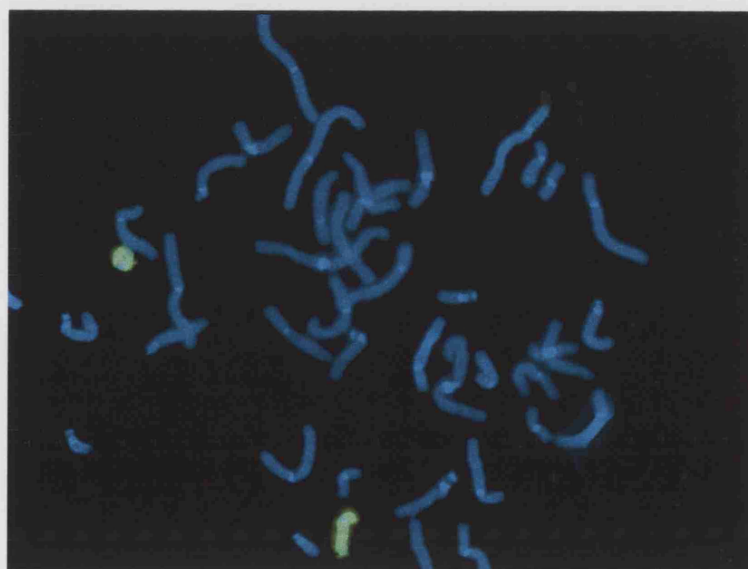


Figura 42b: Imagen de FISH con sonda WCP 18 de un caso de cromosoma 18 en anillo.

una translocación balanceada entre los cromosomas 9 y 14 y un paciente con una microdeleción en 22q11.2].

En ninguno de los 45 pacientes en los que el paladar hendido y/o labio leporino se presentó de forma aislada se hallaron cromosomopatías.

### **17) Hiperlaxitud articular**

Se observó en 53 pacientes, en 3 de ellos (5,6%) se encontraron anomalías cromosómicas (2 con cariotipo 45,X y el otro con cariotipo 47,XXX).

En 6 casos la hiperlaxitud articular fue la única manifestación fenotípica, en sólo 1 de ellos existía cromosomopatía.

### **18) Artrogriposis**

Estuvo presente en 18 pacientes, 2 de ellos con cariotipo patológico. En ninguno de los 10 pacientes con artrogriposis aislada se vieron alteraciones citogenéticas.

### **19) Talla baja**

Se estudiaron 869 pacientes con talla baja, en 71 de ellos (8,17%) se encontraron anomalías cromosómicas: en 48 casos existían anomalías en el cromosoma X, en 2 en el cromosoma Y y en los 21 casos restantes alteraciones en diversos cromosomas autosómicos.

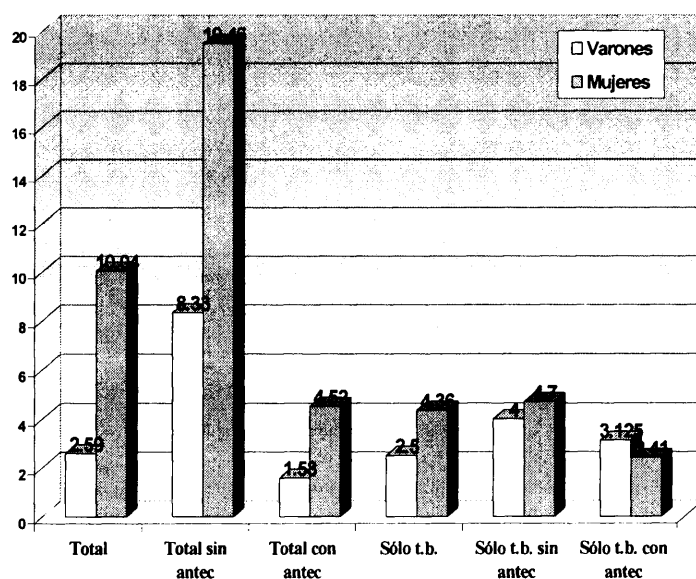
El porcentaje de pacientes con alteraciones en el cariotipo fue menor en el subgrupo de 328 pacientes con antecedentes familiares de talla baja, entre los cuales en sólo 13 casos (3,96%) se observaron cromosomopatías. Y, por el contrario, el porcentaje de patología cromosómica fue mayor en el subgrupo sin antecedentes familiares de talla baja (541 pacientes) entre los cuales se encontró un cariotipo patológico en 58 casos (10,72%).

En 492 pacientes la talla baja fue la única alteración fenotípica encontrada, de ellos 20 (4,06%) tenían cariotipo patológico. En el subgrupo de 239 pacientes con talla baja aislada con antecedentes familiares, en 6 casos (2,51%) el cariotipo estaba alterado y en el subgrupo de 253 pacientes con talla baja aislada sin antecedentes familiares, en 14 casos (5,53%) encontramos alteraciones cromosómicas.

En los distintos grupos de pacientes se observaron frecuencias de anomalías cromosómicas distintas en varones y mujeres, los datos se muestran en la tabla 2 y en la figura 43.

	VARONES				MUJERES			
	Total	Sin alt cr	Con alt cr	% con alt cr	Total	Sin alt or	Con alt cr	% con alt
Total talla baja	231	225	6	2,59	637	573	64	10,04
Total sin antecedentes	60	55	5	8,33	149	120	29	19,46
Total con antecedentes	63	62	1	1,58	265	253	12	4,52
Total con antec de 1º	50	49	1	2	228	218	10	4,38
Sólo talla baja	80	78	2	2,5	412	394	18	4,36
Sólo talla b sin antec	25	24	1	4	85	81	4	4,7
Sólo talla b con antec	32	31	1	3,125	207	202	5	2,41
Sólo talla b con antec 1º	27	26	1	3,7	179	174	5	2,79

**Tabla 2.** Frecuencias de anomalías cromosómicas en pacientes con talla baja. Total= total de pacientes incluyendo tanto individuos con talla baja aislada como a los que presentaban otras alteraciones asociadas. Antecedentes y antec=antecedentes familiares de talla baja, 1º= primer grado, sólo talla b=pacientes en los que la talla baja era la única anomalía fenotípica existente, alt cr=alteraciones cromosómicas.



**Figura 43:** Frecuencia (en porcentajes) de anomalías cromosómicas en individuos con talla baja. Antec=antecedentes familiares de talla baja, sólo tb=pacientes en los que la talla baja era la única anomalía fenotípica existente

El 2,59% de los varones con talla baja tenían alteraciones cromosómicas, frente al 10,04% de las mujeres con talla baja. El porcentaje de pacientes con cromosomopatías fue mayor, en ambos sexos, cuando no existían antecedentes familiares de tallas bajas: el 19,46% de las mujeres

y el 8,33% de los varones. Las diferencias eran menores cuando la talla baja se presentaba como única alteración fenotípica.

En mujeres las cromosomopatías que se vieron con más frecuencia fueron las que involucraban al cromosoma X, que se encontraron en 48 de las 64 mujeres (75%) con cariotipo patológico. En 2 de los 6 varones (33,33%) con cromosomopatías se vieron alteraciones en el cromosoma Y.

#### **20) Talla alta**

Entre 57 pacientes estudiados con talla alta 14 (24,56%) presentaban cariotipo patológico. Once pacientes estaban afectos de síndrome de Klinefelter, 2 casos tenían cariotipo masculino con fenotipo femenino y un paciente presentaba síndrome de X frágil.

En ninguno de los 8 individuos en los que la talla alta era la única manifestación fenotípica se observaron cromosomopatías.

#### **21) Edema en el dorso del pie al nacimiento**

Por sospecha de síndrome de Turner, se estudiaron 13 neonatos de sexo femenino con edema en el dorso del pie, en 7 de ellos (53,84%) se encontraron alteraciones cromosómicas. En 6 de las 7 pacientes el estudio citogenético confirmó el síndrome de Turner (5 de ellas con cariotipo 45,X) y en la otra paciente existía un cromosoma derivado de una translocación (14;18) que suponía una monosomía para el brazo corto del cromosoma 18.

En ninguna de las 2 niñas en las que el edema de pie era la única anomalía fenotípica se encontraron alteraciones en el cariotipo.

#### **22) Amenorrea**

Se consideró amenorrea la ausencia de menstruación en mujeres con edad mayor o igual a 16 años.

Se estudiaron 143 pacientes con amenorrea, entre ellas en 29 casos (20,27%) encontramos cromosomopatías. El 24,17% (22 de entre 91) de las pacientes con amenorrea primaria y el 13,46% (7 de entre 52) de las pacientes con amenorrea secundaria tenían alteraciones citogenéticas. Entre las 29 pacientes con amenorrea y cariotipo patológico en 14 casos hallamos anomalías en el cromosoma X, en uno de estos 14 casos un cromosoma derivado de una translocación entre los cromosomas X e Y (figura 44), en 11 pacientes encontramos un cariotipo masculino (inversión del sexo) y en 4 casos diversas alteraciones en cromosomas autosómicos.

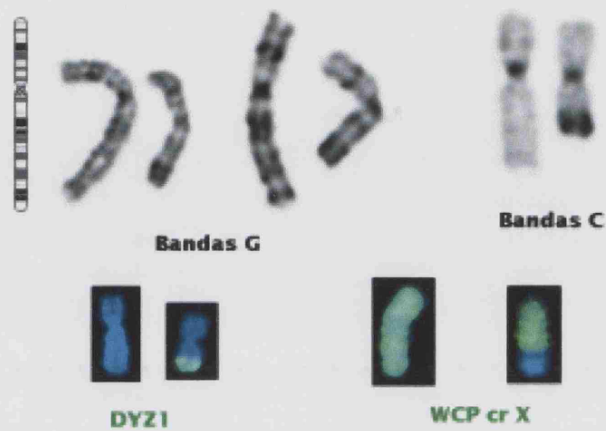


Figura 44: Cariotipo parcial con bandeo GTG, bandeo C y FISH en un caso de un cromosoma X derivado de una translocación (X;Y). La sonda DYZ1 hibrida en la región de heterocromatina distal del brazo largo del cromosoma Y. WCP cr X= sonda "painting" para el cromosoma X.

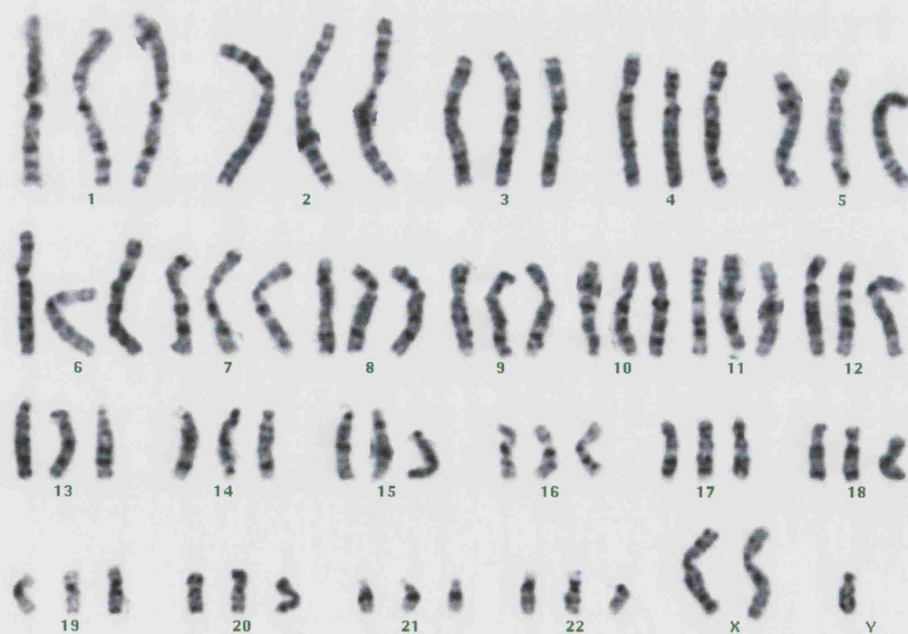


Figura 45: Cariotipo con bandeo GTG de un paciente con triploidía



Entre 77 pacientes en las que la amenorrea era la única manifestación clínica, 9 (11,68%) presentaban cromosomopatías. El 14,63% (6 de entre 41) de las pacientes con amenorrea primaria aislada y el 8,1% (3 de entre 37) de las pacientes con amenorrea secundaria aislada tenían alteraciones cromosómicas.

En 25 pacientes existía talla baja, además de amenorrea, 10 de ellas (40%) tenían alteraciones citogenéticas (de síndrome de Turner en los 10 casos). Entre 10 pacientes estudiadas por amenorrea y talla baja sin antecedentes familiares, en 8 se observaron cromosomopatías.

### **23) Anomalías en genitales femeninos**

Se estudiaron 98 pacientes con estas anomalías, 15 de ellas (15,31%) presentaban cariotipo patológico. En 6 casos se vieron anomalías diversas en el cromosoma X, una paciente tenía un cromosoma X derivado de una translocación en los cromosomas X e Y (que suponía una delección de parte del brazo largo del cromosoma X y la presencia de heterocromatina distal del brazo largo del cromosoma Y), en 2 pacientes encontramos un cariotipo masculino normal (inversión de sexo), en otras 2 existía trisomía 13, en una trisomía 18, en otra trisomía 21 y en los 2 casos restantes anomalías estructurales de cromosomas autosómicos (una delección intersticial en el cromosoma 6 de las bandas q21q23 y una microdelección en 22q11.2).

Entre las 42 pacientes con anomalías en genitales femeninos aisladas, sólo 1 tenía cariotipo patológico.

### **24) Criptorquidia**

Se hizo estudio citogenético a 916 pacientes por presentar criptorquidia, en sólo 27 de ellos (2,94%) se encontraron alteraciones en el cariotipo. Doce pacientes estaban afectados de síndrome de Klinefelter, en 2 casos se vieron alteraciones estructurales en el cromosoma Y, en un paciente existía un cariotipo 47,XYY, en otro un cariotipo femenino con fenotipo masculino y en el resto encontramos anomalías diversas en cromosomas autosómicos.

En 693 casos la criptorquidia era la única alteración fenotípica, de ellos 13 (1,87%) tenían anomalías cromosómicas. En 6 pacientes existía cariotipo de síndrome de Klinefelter, un paciente presentaba un cariotipo femenino normal (inversión de sexo), en un paciente observamos un cariotipo 47,XYY, en otro una anomalía estructural en el cromosoma Y y en los 4 restantes reordenamientos cromosómicos balanceados que involucraban a diferentes cromosomas autosómicos.

Entre 172 pacientes con criptorquidia bilateral 5 (2,91%) tenían anomalías cromosómicas y entre los 744 individuos con criptorquidia unilateral 22 (2,96%).

#### **25) Hipospadias y/o epispadias**

Se estudiaron 100 pacientes con hipospadias y/o epispadias, 7 de ellos (7%) tenían un cariotipo patológico. Dos pacientes estaban afectados de síndrome de Klinefelter, un paciente tenía una anomalía estructural del cromosoma Y, otro una trisomía 18, otro triploidía (figura 45) y en los 2 pacientes restantes existían anomalías estructurales en cromosomas autosómicos.

En ninguno de los 26 pacientes cuya única alteración fenotípica era hipospadias y/o epispadias se encontraron anomalías cromosómicas.

#### **26) Otras anomalías en genitales masculinos**

Entre 305 pacientes estudiados 47 (14,40%) tenían cariotipo patológico. En 101 pacientes las alteraciones en genitales eran la única anomalía fenotípica, de ellos sólo 3 (2,97%) presentaban alteraciones citogenéticas.

Se estudiaron 223 pacientes por hipogonadismo, en 34 de ellos (15,24%) encontramos anomalías cromosómicas. En 30 pacientes diagnosticamos un síndrome de Klinefelter, en 2 casos existía una delección en el brazo corto del cromosoma 18, un paciente tenía una delección en el brazo corto del cromosoma Y y otro un síndrome de Prader-Willi. En 98 pacientes el hipogonadismo era la única alteración fenotípica existente, sólo 1 de ellos (1,02%) presentó cariotipo patológico.

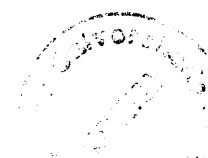
Entre 30 pacientes estudiados por macrogonosomía (en la mayoría de los casos sólo macrorquidia), 10 presentaban anomalías citogenéticas. En los 10 pacientes la alteración cromosómica observada fue la presencia de cromosoma X frágil. En ninguno de los 6 pacientes que presentaban macrogonadismo aislado observamos alteraciones cromosómicas.

Entre 52 pacientes estudiados por otras anomalías en genitales masculinos, sólo 3 (5,76%) tenían cariotipo patológico.

#### **27) Ginecomastia**

Se estudiaron 129 pacientes con ginecomastia, en 12 de ellos (9,30%) encontramos anomalías cromosómicas. En 11 de los 12 pacientes existía síndrome de Klinefelter, el otro paciente presentaba una delección del brazo corto del cromosoma 18.

En ninguno de los 62 pacientes con ginecomastia aislada se observaron cromosomopatías.



### **28) Azoospermia**

Estuvo presente en 245 pacientes, de los cuales 77 (31,42%) tenían cariotipo patológico. Entre estos 77 pacientes, 68 casos fueron síndromes de Klinefelter, 4 pacientes presentaban anomalías cromosómicas estructurales que involucraban al cromosoma Y, un paciente tenía un cariotipo 47,XYY, en 3 pacientes existían translocaciones robertsonianas (2 casos entre los cromosomas 14 y 21 y un caso entre los cromosomas 13 y 14) y un paciente era portador de una translocación recíproca no robertsoniana entre los cromosomas 7 y 21.

En 136 casos la azoospermia fue la única manifestación fenotípica existente, entre ellos 21 (15,44%) presentaban anomalías cromosómicas.

### **29) Oligospermia**

Se estudiaron 62 pacientes con oligospermia encontrándose cromosomopatías sólo en 4 (6,45%). Dos pacientes tenían síndrome de Klinefelter y en los otros 2 casos existían translocaciones robertsonianas (una entre los cromosomas 14 y 21 y otra entre los cromosomas 13 y 15).

Entre 43 pacientes estudiados por presentar oligospermia sin ninguna otra alteración, 2 tenían alteraciones en el cariotipo (4,65%).

### **30) Pubertad retrasada**

Entre 107 pacientes con retraso puberal, en 5 (4,67%) encontramos alteraciones cromosómicas. En 3 casos existían anomalías en el cromosoma X, en un paciente alteraciones en el cromosoma Y y en otro un cromosoma marcador de origen desconocido.

En 19 casos la pubertad retrasada se presentó sin acompañarse de otras alteraciones fenotípicas, sólo uno de estos pacientes tenía cariotipo patológico.

### **31) Pubertad precoz**

Estudiamos 33 pacientes con pubertad precoz, de los cuales sólo uno tenía anomalías cromosómicas, que consistían en la presencia de un isocromosoma de los brazos largos del cromosoma X.

En ninguno de los 24 pacientes con pubertad precoz como anomalía fenotípica aislada existía cariotipo patológico.

### **32) Genitales ambiguos (intersexos)**

Entre los 43 pacientes estudiados por presentar fenotipo intersexual, encontramos anomalías cromosómicas en sólo 3 casos (6,98%). En dos de ellos se trataba de anomalías

estructurales en el cromosoma Y en mosaico con una línea celular 45,X y en el tercer caso existía un cromosoma derivado de una translocación entre los cromosomas 4 y 15.

Entre los 40 pacientes con sexo fenotípico ambiguo sin alteraciones cromosómicas 14 casos tenían un cariotipo femenino (46,XX) y 26 cariotipo masculino (46,XY).

### **33) Inversión del sexo**

En 15 pacientes encontramos un sexo cromosómico distinto del sexo fenotípico (inversión del sexo). Entre ellos, 14 tenían cariotipo masculino con fenotipo femenino y solamente en un caso existía cariotipo femenino con fenotipo masculino. En sólo uno de los 15 pacientes con inversión de sexo observamos anomalías cromosómicas, se trataba de un cariotipo en mosaico 47,XXY/46,XY.

### **34) Tumores**

Se estudiaron 260 pacientes que presentaban patología neoplásica, encontrándose cromosomopatías en 9 de ellos (3,46%). En 4 pacientes observamos reordenamientos cromosómicos balanceados que afectaban a cromosomas autosómicos distintos (en uno de los pacientes, con retinoblastoma bilateral, existía una translocación entre los cromosomas 12 y 13 con punto de rotura en el cromosoma 13 en la región donde está situado el gen RB1 que está implicado en la génesis de esta neoplasia), en 2 casos hallamos cromosomas marcadores, otros dos pacientes síndrome de Klinefelter y, por último, un paciente afecto de síndrome de WARG presentaba una delección intersticial en el brazo corto del cromosoma 11 que incluía la región crítica del síndrome.

En 239 individuos el tumor era la única alteración existente, 6 de ellos (2,51%) tenían anomalías cromosómicas.

## **C- Cromosomopatías en parejas con abortos de repetición**

Estudiamos 1166 individuos (583 parejas) por abortos de repetición encontrando anomalías cromosómicas en 38 de ellos (3,26% de los individuos; 6,52% de las parejas).

En la mayor parte de los casos (73,68%) las cromosomopatías encontradas fueron alteraciones estructurales balanceadas, las más frecuentes fueron las translocaciones recíprocas no robertsonianas (44,73%), seguidas de las translocaciones robertsonianas (18,42%) y las inversiones (10,53%). En 5 casos (13,16%) observamos cromosomas extra marcadores. Cuatro individuos (10,53%) presentaban aneuploidías en mosaico con la(s) línea(s) patológica(s) en

porcentaje de 14-20%, que en tres de los casos involucraban al cromosoma X y en el restante al cromosoma 21 (monosomía 21 en mosaico). Por último, en un paciente (2,63%) diagnosticamos una delección en el cromosoma Y.

### **III- MOSAICISMOS DE BAJO GRADO**

#### **A- Mosaicismos con línea patológica en porcentaje bajo**

Incluimos en el estudio los casos en los que existía la misma cromosomopatía, u otra relacionada, en dos o más células, pero en un porcentaje inferior al 10% de las células analizadas. Con el fin de excluir casos debidos anomalías de cultivo descartamos aquellos en los que encontramos alteraciones cromosómicas en una sola célula. Teniendo en cuenta este criterio, los mosaicos de bajo grado entre nuestros pacientes fueron todos aneuploidías de cromosomas sexuales.

La presencia estos mosaicismos de bajo grado resulta difícil de valorar; con el fin de analizar la significación clínica de los mismos, estudiamos la frecuencia con la que aparecían en los diferentes grupos de pacientes estudiados y en los controles. Los resultados están recogidos en la figura 46.

a) Controles: Entre 877 pacientes controles con cariotipo normal, encontramos anomalías numéricas en cromosomas sexuales en mosaico con línea patológica inferior al 10% en 2 (0,22%).

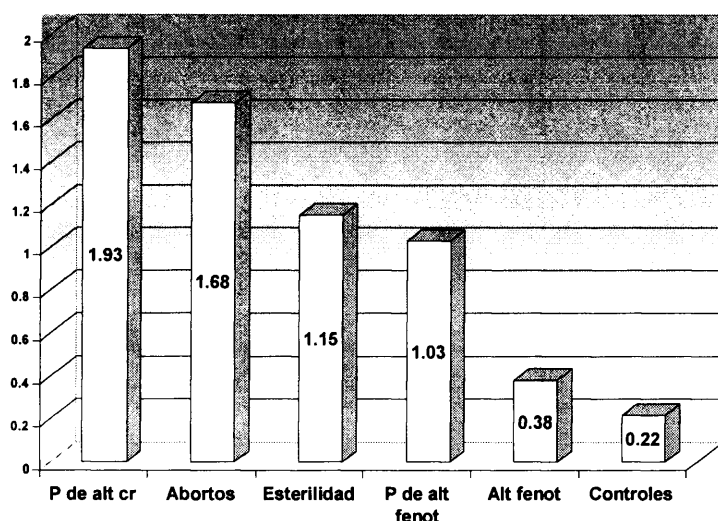
b) Individuos con fenotipo normal y cariotipo no patológico, que habían sido estudiados por tener un hijo afecto de una anomalía cromosómica *de novo*: Entre 258 casos encontramos 5 (1,93%) con aneuploidías en cromosomas sexuales en mosaico de bajo grado, que es significativamente superior a las cifras observadas en los controles ( $p=0,009$ ).

c) Individuos con fenotipo normal y cariotipo no patológico estudiados por ser padres de un hijo fallecido con anomalías fenotípicas y cariotipo desconocido: Entre 385 individuos estudiados encontramos 4 casos (1,03%) de anomalías numéricas de los cromosomas sexuales en mosaico en porcentaje menor del 10%. La diferencia con la frecuencia observada en controles no fue significativa ( $p=1,000$ ).

d) Individuos estudiados por abortos de repetición con cariotipo normal: Entre 1128 pacientes encontramos 19 (1,68%) con alteraciones numéricas en cromosomas sexuales en un porcentaje inferior al 10% de las células analizadas. La diferencia con pacientes controles fue significativa ( $p=0,003$ ).

e) Pacientes estudiados por esterilidad de causa desconocida y sin alteraciones cromosómicas: Entre 87 individuos estudiados encontramos uno con aneuploidía de cromosomas sexuales en porcentaje bajo (1,15%), la existencia de un número reducido de casos no permitió utilizar los test estadísticos para obtener conclusiones fiables. Entre 313 casos de esterilidad (incluyendo pacientes con azoospermia y oligospermia) y cariotipo normal encontramos mosaicismos de bajo grado en 5 (1,60%), esta diferencia fue significativa con respecto a las cifras observadas en controles.

f) Individuos estudiados por presentar diversas anomalías fenotípicas y con cariotipo no patológico: Entre 4920 pacientes encontramos aneuploidías en cromosomas sexuales en porcentaje menor al 10% en 19 (0,38%). La diferencia con pacientes controles no fue significativa ( $p=0,680$ ).



**Figura 46:** Porcentajes de aneuploidías de cromosomas sexuales en mosaico, en porcentaje inferior al 10%, que encontramos en los diferentes grupos de pacientes estudiados. P=padres, esterilidad=esterilidad de causa desconocida, alt=alteraciones, cr=cromo-sómicas, fenot=fenotípicas

## **B- Mosaicismos ocultos en pacientes con síndrome de Turner**

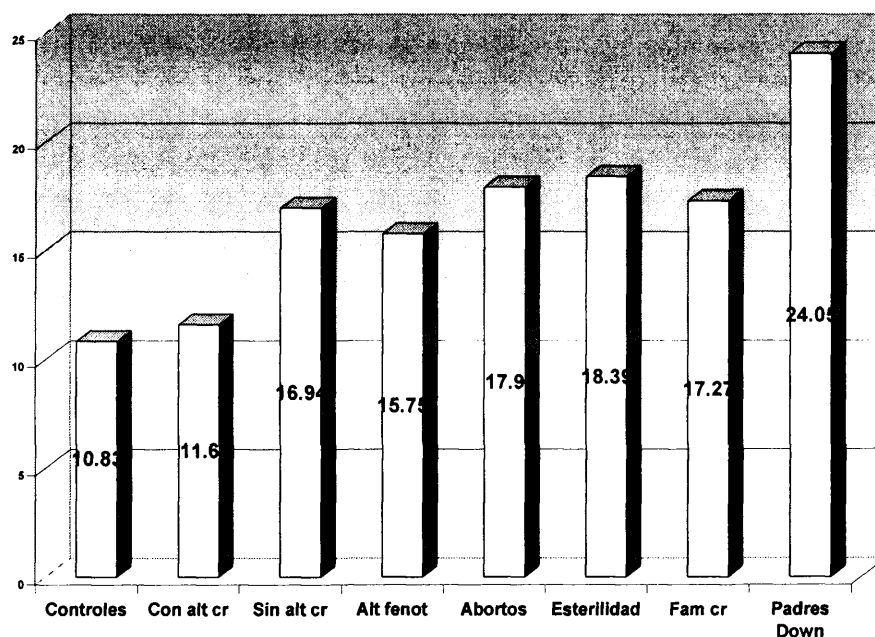
Se estudiaron 8 pacientes con síndrome de Turner cuyo cariotipo con las técnicas citogenéticas convencionales era 45,X en línea única. La búsqueda de mosaicos ocultos se realizó con FISH utilizando las sondas WCP X, DXZ1, DYZ1 y DYZ3. Entre las 8 pacientes se encontraron 2 casos de mosaicismos que no habían sido detectados con las técnicas citogenéticas convencionales. Entre 500 metafases analizadas, se encontró en un caso una célula 46,XY y en el otro una célula 46,XX.

## IV- HETEROMORFISMOS CROMOSÓMICOS

### A- Frecuencia de heteromorfismos cromosómicos

El significado de los heteromorfismos cromosómicos es desconocido. En este trabajo hemos estudiado la frecuencia de heteromorfismos en los diferentes grupos de pacientes con el fin de analizar si existe relación entre ellos y alguna alteración clínica (Figura 47).

Entre los 862 pacientes con cromosomopatías estudiados encontramos heteromorfismos cromosómicos en 100 (11,6%), y entre los 8227 pacientes sin alteraciones cromosómicas en 1394 (16,94%). Entre los 877 individuos sanos controles sin alteraciones cromosómicas se encontraron heteromorfismos en 95 (10,83%).



**Figura 47:** Frecuencia de heteromorfismos cromosómicos expresada en porcentajes. Con alt cr= pacientes con alteraciones cromosómicas, sin alt cr = pacientes sin alteraciones cromosómicas, alt fenot = pacientes con alteraciones fenotípicas, abortos = pacientes con abortos de repetición, fam cr = pacientes estudiados por tener un familiar afecto de cromosomopatía, padres Down = padres de individuos con síndrome de Down.

#### 1) Heteromorfismo en pacientes con cromosomopatías

Encontramos heteromorfismos cromosómicos en el 11,6% de los pacientes con anomalías cromosómicas (en 100 de entre 862 pacientes). La cifra fue mayor que en individuos controles (10,83%), pero las diferencias no fueron significativas ( $p=0,666$ ).



En pacientes con anomalías numéricas observamos heteromorfismos en el 12% de los casos (en 52 de entre 433 casos), las diferencias con los datos obtenidos en controles no fueron significativas ( $p=0,588$ ).

En pacientes con anomalías cromosómicas estructurales, observamos heteromorfismos en el 8,61% de los casos (en 28 de entre 325 pacientes). Esta frecuencia no mostró diferencias significativas con respecto a la hallada en controles ( $p=0,308$ ).

Entre los 88 pacientes con anomalías numéricas y estructurales presentaban heteromorfismo 13 (14,77%), la diferencia con individuos controles no fue significativa ( $p=0,347$ ).

## **2) Heteromorfismo en pacientes con alteraciones fenotípicas**

Se estudiaron 5451 pacientes con alteraciones fenotípicas entre los cuales en 835 (15,31%) observamos heteromorfismos cromosómicos. Esta frecuencia fue significativamente mayor que la hallada en individuos controles ( $p<0,001$ ).

Entre los 647 pacientes con anomalías fenotípicas y alteraciones cromosómicas encontramos heteromorfismos cromosómicos en 78 (12,06%), la diferencia con individuos controles no fue significativa ( $p=0,508$ ). Y entre los 4804 pacientes con alteraciones fenotípicas y cariotipo normal encontramos heteromorfismos cromosómicos en 757 (15,76%), esta frecuencia fue significativamente mayor ( $p<0,001$ ) que la encontrada en controles.

En la tabla 3 se recoge la frecuencias de heteromorfismos en pacientes con distintas alteraciones fenotípicas (en individuos con y sin cromosomopatías) y los valores de  $p$  de la distribución de  $\chi^2$  de Pearson o del test exacto de Fisher. Las casillas en blanco corresponden a aquellos grupos de pacientes en los que su pequeño tamaño no permitió que los resultados de los test estadísticos arrojasen resultados suficientemente fiables.

La frecuencia de heteromorfismos en todas las patologías fue mayor en los pacientes sin anomalías cromosómicas que en los pacientes con cariotipo patológico.

Entre los individuos sin alteraciones citogenéticas las frecuencias de heteromorfismos tuvieron diferencias significativas con la de los controles para los grupos de pacientes con cardiopatía, retraso mental, rasgos fenotípicos, anomalías renales, anomalías esqueléticas, alteraciones en genitales femeninos, anomalías en genitales masculinos, azoospermia, ginecomastia y en pacientes con tumores. En pacientes con alteraciones cromosómicas las diferencias o no fueron significativas o no pudieron ser analizadas por tratarse de grupos pequeños de individuos.

	Pacientes sin alteraciones cromosómicas					Pacientes con alteraciones cromosómicas				
	Total	Con heter	% Con heter	Sig.	p	Total	Con heter	% Con heter	Sig.	p
Cardiopatía.	135	27	20	Si	0,004	89	15	16,85	No	0,126
Retraso m.	742	120	16,17	Si	0,002	119	16	13,44	No	0,487
Rasgos	1034	171	16,53	Si	<0,001	414	52	12,56	No	0,413
Lab l/palad. h	117	17	14,53	No	0,302	23	2	8,69		
SNC	117	19	16,23	No	0,117	23	4	17,39		
An. renales	65	13	20	Si	0,042	20	4	20		
An. digest.	49	8	16,32	No	0,339	22	3	13,63		
Esquelétic.	206	47	22,82	Si	<0,001	45	7	15,55		
Talla baja	798	81	10,15	No	0,708	71	6	8,45		
Amenorrea	114	12	10,53	No	0,951	29	5	17,24		
Genit. Fem.	83	18	21,69	Si	0,006	0	0	0		
Criptorquidia	889	120	13,50	No	0,101	27	1	3,7		
Hiposp/Epis.	93	9	9,68	No	0,868	7	0	0		
Azoospermia.	168	43	25,59	Si	<0,001	77	10	12,98	No	0,697
Oligospermia	58	6	10,34	No	0,918	4	0	0		
Genit. Masc.	258	56	21,70	Si	<0,001	47	3	6,38		
Ginecomastia	117	27	23,08	Si	<0,001	12	1	8,33		
Tumor	251	58	23,10	Si	<0,001	9	0	0		

**Tabla 3:** Frecuencia de heteromorfismos en pacientes con diferentes alteraciones fenotípicas. Retraso m=retraso mental, rasgos=rasgos fenotípicos, lab l/palad. h=labio leporino y/o paladar hendido, SNC= sistema nervioso central, an renales= anomalías renales, an. digest=anomalías digestivas, esquelétic.=anomalías esqueléticas, genit fem=anomalías en genitales femeninos, hipospad/Epis.= hipospadias/epispadias, genit. mas.=otras anomalías en genitales masculinos. sig= diferencia significativa con la frecuencia de heteromorfismos vista en controles p= valores de p de la distribución de  $\chi^2$  de Pearson o del test exacto de Fisher.

### **3) Heteromorfismos en pacientes con alteraciones en la fertilidad**

Entre 1128 individuos estudiados por abortos de repetición y cuyo cariotipo no mostró alteraciones, encontramos heteromorfismos en 202 (17,91%). Esta frecuencia es significativamente superior a la encontrada en individuos controles ( $p<0,001$ ).

En 38 pacientes con abortos de repetición encontramos anomalías cromosómicas, 3 de ellos tenían heteromorfismos cromosómicos (7,89%). La diferencia con la frecuencia de heteromorfismos vista en controles no fue significativa ( $p=760$ ).

Entre 87 individuos con esterilidad de causa desconocida observamos heteromorfismos en 16 (18,39%), que no supone una diferencia significativa ( $p=0,054$ ) con las cifras observadas en los controles.

#### **4) Heteromorfismo en familiares de pacientes con cromosomopatías**

Entre 660 individuos con cariotipo normal estudiados por presentar familiares afectados de anomalías cromosómicas, encontramos heteromorfismos en 114 (17,27%). La diferencia respecto a la encontrada en individuos controles fue significativa ( $p < 0,001$ ).

En 164 pacientes con familiares afectados de cromosomopatías encontramos anomalías cromosómicas, en 16 de ellos observamos heteromorfismos cromosómicos (9,75%). La diferencia con los valores observados en controles no fue significativa ( $p = 0,786$ ).

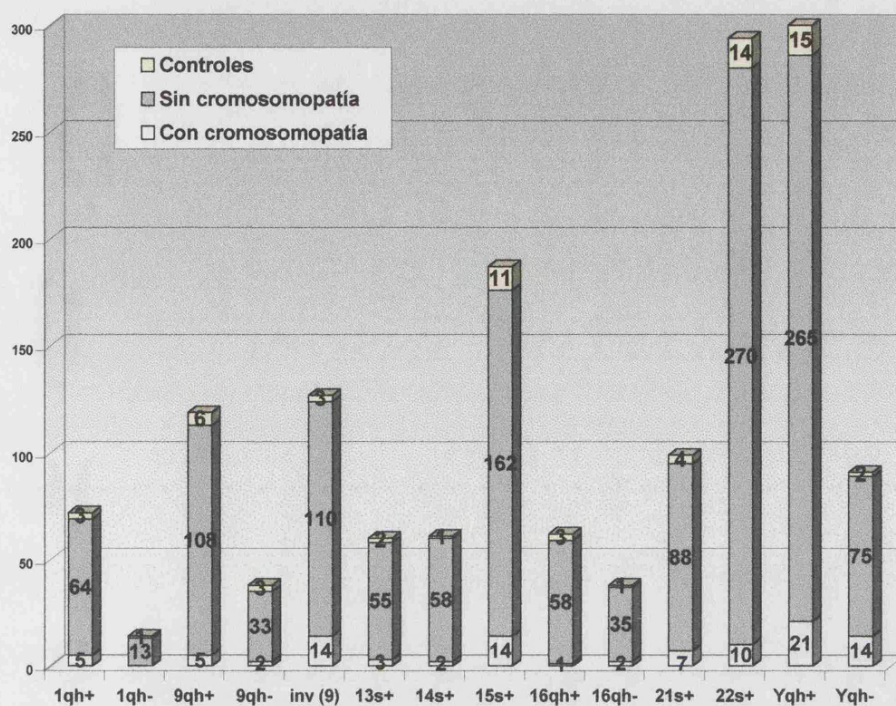
De los 321 individuos, cromosómicamente normales padres de un hijo afecto de una alteración cromosómica, 55 (17,13%) tenían heteromorfismos cromosómicos. Las diferencias con las frecuencias de heteromorfismos encontradas en individuos controles fueron significativas ( $p < 0,005$ ).

Entre 79 individuos con cariotipo normal padres de un hijo con síndrome de Down, por trisomía primaria del cromosoma 21, encontramos heteromorfismos en 19 (24,05%). La diferencia con los controles fue significativa ( $p < 0,001$ ). Uno de ellos tenía 21s+, el resto heteromorfismos en otros cromosomas.

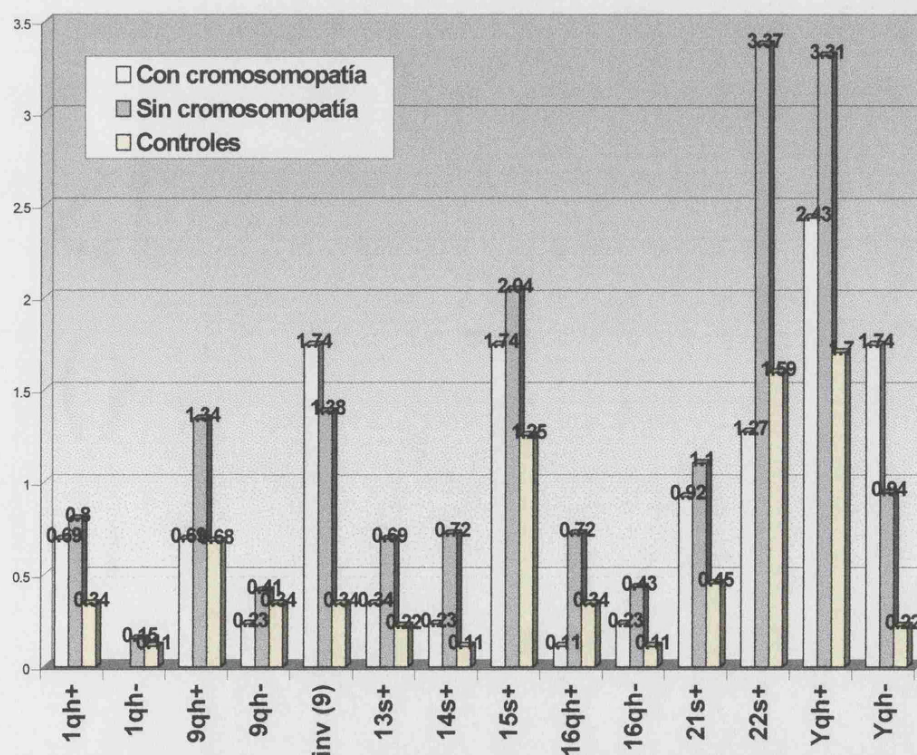
### **B- Frecuencias de los diferentes tipos de heteromorfismos cromosómicos**

La frecuencia observada de cada uno de los distintos heteromorfismos en pacientes con anomalías cromosómicas, en pacientes sin anomalías cromosómicas y en controles se muestran en las figuras 48 y 49.

Los heteromorfismos más frecuentes fueron Yqh+ (en 301 casos) y 22s+ (en 294 casos). Le siguieron en orden de frecuencia 15s+ (en 187 casos) (figura 50), la inversión pericéntrica del cromosoma 9 (en 127 casos), 9qh+ (en 119), 21s+ (en 99 casos) (figura 51), Yqh- (en 91 casos), 1qh+ (72 casos), 16qh+ (en 62 casos), 14s+ (en 61 casos), 13s+ (60 casos), 9qh- y 16qh- (en 38 casos cada uno) y 1qh- (en 14 casos).



**Figura 48.** Heteromorfismos encontrados en pacientes con alteraciones cromosómicas, en pacientes sin alteraciones cromosómicas y en controles sanos.



**Figura 49:** Frecuencias observadas de cada uno de los distintos tipos de heteromorfismos expresada en porcentaje.

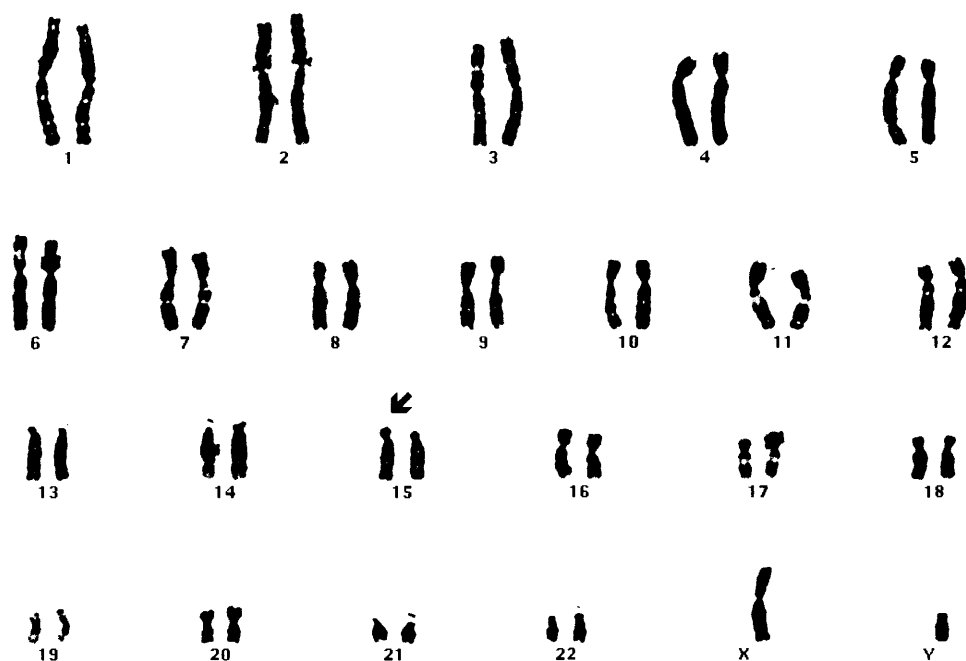


Figura 50: Cariotipo con bandeo GTG en el que se muestra un cromosoma 15s+



Figura 51: Cariotipo con bandeo GTG en el que se muestra un cromosoma 21s+

Se estudió en individuos sin anomalías cromosómicas la relación entre los heteromorfismo del cromosoma Y y anomalías fenotípicas en la talla y en genitales masculinos. Los resultados se muestran en la tabla 4.

No hemos analizado los datos de heteromorfismos del cromosoma Y en individuos con anomalías cromosómicas, debido a que el número reducido de pacientes con estos heteromorfismos en cada uno de los grupos de alteraciones fenotípicas no permite utilizar los test estadísticos con fiabilidad.

	Total	Con Yqh+	% con Yqh+	Sig	p	Con Yqh-	% con Yqh-
Azoospermia	168	16	9,52	Si	<0,001	8	4,76
Oligospermia	58	3	5,17			0	0
Criptorquidia	889	39	4,38	No	0,104	8	0,89
Hipospadias	93	3	3,22			1	1,07
Otras alteraciones en genitales masculinos	258	24	9,3	Si	<0,001	0	0
Talla baja en varones	225	18	8	Si	0,002	3	1,33
Talla alta en varones	27	4	14,8			1	3,7
Varones controles	451	11	2,44			2	0,44

**Tabla 4:** Heteromorfismos del cromosoma Y. Sig=significación estadística, p= valores de p de la distribución de  $\chi^2$  de Pearson o del test exacto de Fisher.

Los porcentajes de pacientes con Yqh+ fueron mayores en los 7 grupos de anomalías fenotípicas que en los controles, pero el número pequeño de pacientes con este heteromorfismo no permite utilizar los test estadísticos con fiabilidad suficiente para el caso de la oligospermia, hipospadias y talla alta. Para la azoospermia, alteraciones en genitales masculinos distintas de criptorquidia e hipospadias y para la talla baja se encontró una frecuencia significativamente aumentada de Yqh+.

Los porcentajes de pacientes con Yqh- fueron mayores que en los controles en pacientes con azoospermia, criptorquidia, hipospadias, talla baja y talla alta, pero el número reducido de pacientes con el heteromorfismo no permitió utilizar los test estadísticos con fiabilidad suficiente para establecer la significación de las diferencias encontradas.

#### **Heteromorfismos poco frecuentes**

Entre los 9089 pacientes estudiados, encontramos 14 con heteromorfismos de la heterocromatina poco frecuentes. Un paciente con un cromosoma 11h+ afecto de craneosinostosis, otro paciente con un 12h+ estudiado por tener un testículo de tamaño

pequeño, 4 pacientes con un 17h+ (2 casos de abortos de repetición, un paciente con síndrome de Williams y otro con talla baja), 3 pacientes con un 18h+ (en la misma familia, estudiados por encontrarse este heteromorfismo en un diagnóstico prenatal), un paciente con un 19h+ estudiado por abortos de repetición y 4 pacientes con 20h+ (uno afecto de síndrome de Rubinstein Taybi, 2 individuos sanos estudiados por encontrarse este heteromorfismo en un diagnóstico prenatal y un paciente con abortos de repetición).

# Discusión



## **I- FRECUENCIA DE LAS CROMOSOMOPATÍAS**

El **PRIMER OBJETIVO** del presente trabajo es estudiar la **frecuencia de cromosomopatías en pacientes remitidos para estudio citogenético** y las frecuencias de los distintos tipos de anomalías cromosómicas numéricas y estructurales. Comparamos los resultados de nuestra serie con los encontrados por otros autores, tanto en población general como en población con alteraciones clínicas.

### **A- En la población general**

La frecuencia de cromosomopatías en la población general fue estudiada por Nielsen et al.<sup>2</sup>, en una serie de 34910 recién nacidos, estos autores observaron una incidencia de anomalías cromosómicas de 0,845 % (1/118). Incluyeron en los cálculos de la incidencia las interrupciones voluntarias del embarazo con fetos con anomalías cromosómicas, ya que serían fetos que habrían nacido si no se hubiese interrumpido la gestación. Encontraron mayor número de anomalías en cromosomas autosómicos (72,2%) que en cromosomas sexuales (27,8%).

Nosotros hemos estudiado pacientes remitidos a un Servicio de Genética, que incluye individuos seleccionados por presentar alguna patología o antecedentes familiares, por tanto la frecuencia de cromosomopatías que hemos encontrado es mayor que la del estudio de Nielsen et al.<sup>2</sup> en población general; salvo en el grupo control, formado por individuos sanos en el que observamos una frecuencia de anomalías cromosómicas de 0,57% (5/882), ligeramente inferior a la hallada por Nielsen et al.<sup>2</sup>, ya que ellos incluyen tanto individuos enfermos como sanos.

### **B- En población referida para estudio cromosómico**

Se han publicado pocas series de anomalías cromosómicas en pacientes referidos para estudio citogenético y la mayor parte de las series publicadas cuentan con un número pequeño de pacientes.

Zhang et al.<sup>250</sup>, entre 327 individuos estudiados por retraso mental, alteraciones en la diferenciación sexual, amenorrea o infertilidad, encontraron un 12,2% de pacientes con anomalías cromosómicas. Nuestra serie incluye un número mayor de casos, entre los 9089 individuos estudiados observamos alteraciones cromosómicas en el 9,48% y entre los 5451

pacientes que presentaban alteraciones fenotípicas o en la fertilidad en el 11,87%. Esta frecuencia es muy similar a la encontrada por Zhang et al.<sup>250</sup>

En niños, Navsaria et al.<sup>281</sup>, entre 1000 estudiados por sospecha de anomalías citogenéticas, encontraron cromosomopatía en 166 (16,6%). Entre los 4652 niños de nuestra serie observamos alteraciones en el cariotipo en el 11,26% y entre los 4545 niños que estudiamos por presentar alteraciones fenotípicas en el 10,98%. Este porcentaje es ligeramente inferior al encontrados por Navsaria et al.<sup>281</sup> y similar a los observados tanto por Zhang et al.<sup>250</sup> como por nosotros en el global de pacientes.

Los estudios realizados prenatalmente arrojan cifras similares o ligeramente superiores. Así, Rizzo et al.<sup>282</sup> observaron anomalías cromosómicas en el 16,8% de 247 fetos con alteraciones ecográficas y Van Zalen-Sprock et al.<sup>283</sup> en el 19,52% de entre 210 fetos con malformaciones diagnosticadas por ecografía.

Todos estos estudios indican que las cromosomopatías son una causa importante de malformaciones congénitas, retraso mental y alteraciones en la fertilidad.

### **C- Frecuencia de cromosomopatías numéricas y estructurales**

La cromosomopatías numéricas son más frecuentes que las estructurales.

En la población general, Nielsen et al.<sup>2</sup>, estudiando 34910 neonatos, encontraron anomalías cromosómicas en 276 casos, de las que el 48,17% fueron anomalías numéricas y el 41,24% estructurales; en el 10,58% de los casos se observaron anomalías numéricas y estructurales en el mismo paciente y en 2 casos se encontró un sexo cromosómico distinto del fenotípico.

En población referida para estudio cromosómico, aumenta la frecuencia de anomalías numéricas y disminuye la de anomalías estructurales con respecto a las cifras observadas en población general. Así, Zhang et al.<sup>250</sup> encuentran un 87,5% (35/40) de anomalías numéricas, un 10% (4/40) de estructurales y un 2,5% (1/40) de pacientes con anomalías numéricas y estructurales. Y Navsaria et al.<sup>281</sup> un 74,09% (123/166) de anomalías numéricas, un 16,87% (28/166) de estructurales, un 1,2% (2/166) de pacientes con anomalías numéricas y estructurales simultáneamente y un 7,83% (13/166) de cromosomopatías de las que los autores no especifican el tipo. Nosotros, entre 862 pacientes con anomalías cromosómicas, encontramos alteraciones numéricas en el 51,18% de los casos, estructurales en el 38,42%, en un 10,40% de pacientes observamos anomalías numéricas y estructurales simultáneamente, en 15 pacientes un sexo

fenotípico distinto del cromosómico y, por último, en un caso diagnosticamos una anemia de Fanconi.

En nuestra serie la frecuencia de cromosomopatías numéricas (51,18%), aunque es superior a la encontrada por Nielsen et al.<sup>2</sup> (48,17%) en población general, es inferior a las observadas por Zhang et al.<sup>250</sup> (87,5%) y por Navsaria et al.<sup>281</sup> (74,09%) entre pacientes estudiados por presentar alteraciones clínicas. Parte de esta diferencia es debida a que entre nuestros pacientes están incluidos tanto individuos con alteraciones clínicas como personas sanas estudiadas por antecedentes familiares. Entre los pacientes que estudiamos por presentar patología, el porcentaje de alteraciones numéricas fue mayor (65,22%) y el de estructurales menor (21,95%) y en el 10,35% de los casos hallamos anomalías numéricas y estructurales en un mismo paciente. Sin embargo, la frecuencia de alteraciones numéricas sigue siendo menor en nuestro estudio (65,22%) que en los de Zhang et al.<sup>250</sup> (87,5%) y Navsaria et al.<sup>281</sup> (74,09%). En nuestra serie se incluyeron un número mayor de pacientes (862) que el de las otras dos series (40 y 166 respectivamente) por lo que las cifras de frecuencias obtenidas podrían ser más fiables. Pero las discrepancia de las cifras también pueden reflejar diferencias en los porcentajes de pacientes estudiados con distintas patologías.

La frecuencia de anomalías estructurales es menor en pacientes referidos para estudio citogenético que en la población general debido a que los reordenamientos balanceados no suelen acompañarse de repercusión fenotípica quedando, por ello, en muchas ocasiones, sin diagnosticar. Mientras que los pacientes con anomalías cromosómicas numéricas en la mayor parte de los casos presentan alteraciones en el fenotipo y, por ello, generalmente son remitidos para análisis citogenético.

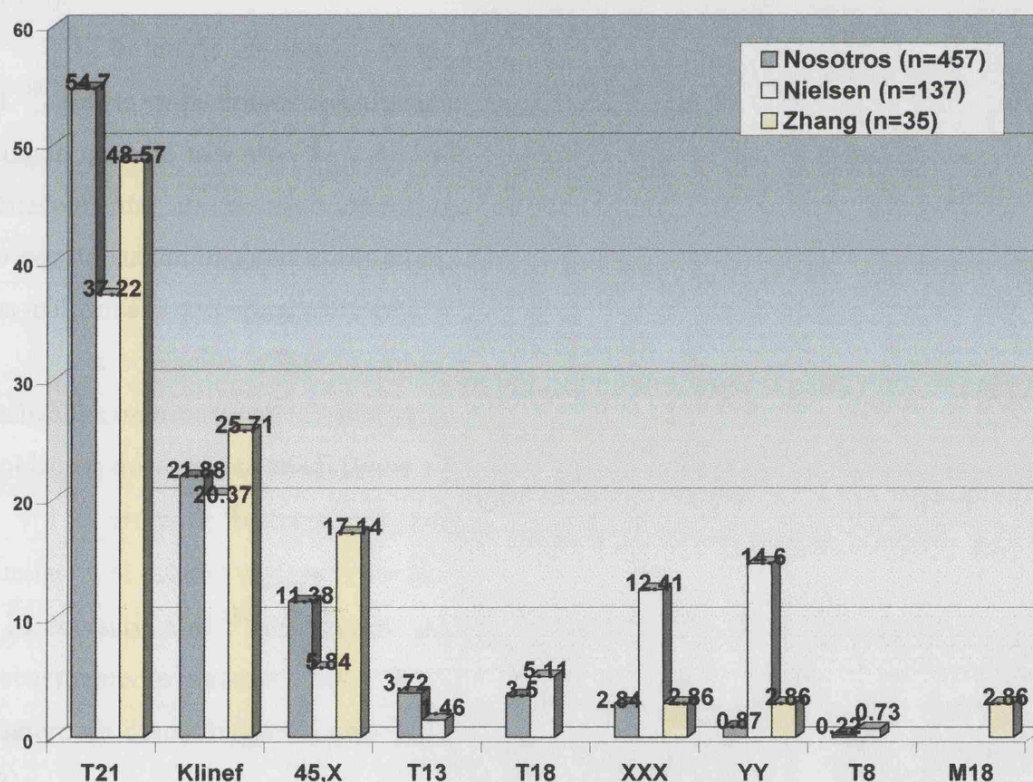
En pacientes estudiados por antecedentes familiares de cromosomopatías se encuentran principalmente alteraciones estructurales. Esto es debido a que las aneuploidías suelen ser alteraciones *de novo*, mientras que las anomalías estructurales pueden ser heredadas de los progenitores y, por tanto, estar presentes en varios miembros de una familia. En nuestra serie, entre los individuos que estudiamos por antecedentes familiares de cromosomopatías las alteraciones fueron estructurales en el 89,02% de los casos. Aunque estas cromosomopatías estructurales generalmente no se acompañen de alteraciones fenotípicas, es importante diagnosticarlas por el riesgo que suponen sobre la descendencia.

# 1) Cromosomopatías numéricas

## a) Frecuencia de anomalías numéricas

Las anomalías numéricas que afectan a los autosomas, en general, se acompañan de repercusión fenotípica y, por ello, la mayor parte de estos pacientes son referidos para estudio citogenético. Las aneuploidías de los cromosomas sexuales, en ocasiones, existen en individuos fenotípicamente normales o con escasas alteraciones y, por tanto, pueden quedar sin diagnosticar.

En la figura 36 se muestran las frecuencias observadas de las diferentes aneuploidías en los nacidos vivos de la serie de Nielsen et al.<sup>2</sup> en un estudio en población general, en la de Zhang et al.<sup>250</sup> realizada en población con alteraciones clínicas y entre nuestros pacientes.



**Figura 36.** Frecuencias (en porcentajes) de los distintos tipos de anomalías numéricas primarias. T21=trisomía primaria del cromosoma 21, Klinef= síndrome de Klinefelter, T13=trisomía primaria del cromosoma 13, T18= trisomía 18, T8=trisomía 8, M18=monosomía 18 en mosaico.

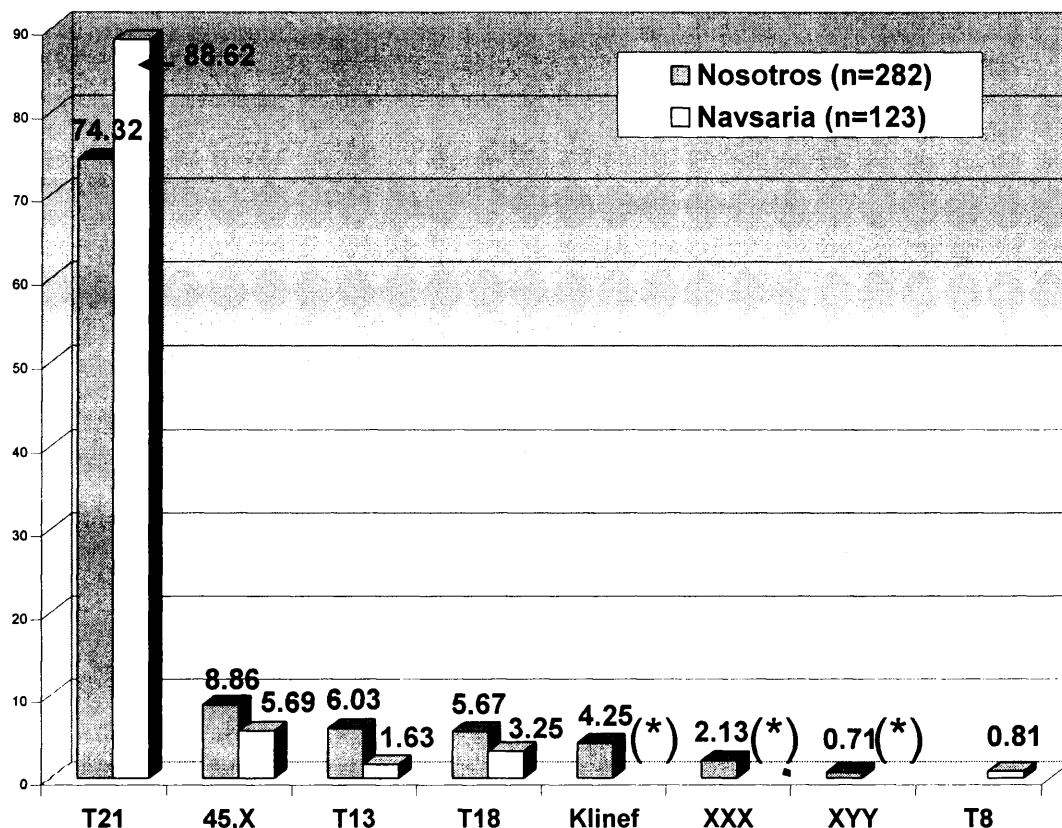
En las tres series la alteración más frecuente es la trisomía 21 (síndrome de Down), seguida del síndrome de Klinefelter.

El orden de frecuencias de las aneuploidías es similar entre nuestros pacientes y en los estudiados por Nielsen et al.<sup>2</sup>, salvo para el caso del síndrome XYY y de la trisomía X, que ellos los encuentran en 3º y 4º lugar de frecuencia respectivamente, mientras que en nuestra serie ocupan el 6º y 7º puesto. Esto es debido a que estas alteraciones pueden quedar sin diagnosticar por su falta de repercusión fenotípica, y por tanto, no incluirse en las series que estudian pacientes con alteraciones clínicas. Sin embargo, en el estudio de Nielsen et al.<sup>2</sup> se diagnosticaron todos los casos existentes porque realizaron cariotipo tanto a pacientes con alteraciones como a individuos sanos. También existen diferencias en cuanto al orden de frecuencia en las trisomías 13 y 18; Nielsen et al.<sup>2</sup> encuentra con más frecuencia la trisomía 18 (7 casos) que la 13 (2 casos), nosotros diagnosticamos más pacientes afectados de trisomía 13 (17 casos) que de trisomía 18 (16 casos).

El orden de frecuencias de las anomalías numéricas en nuestra serie y en la de Zhang et al.<sup>250</sup>, ambas en pacientes con alteraciones clínicas, es parecido salvo en que ellos no encuentran ningún caso de trisomías 13 y 18, debido a que incluyeron en su estudio sólo a pacientes con retraso mental, amenorrea o infertilidad. Las trisomías 13 y 18 tienen una corta supervivencia por lo que no suelen diagnosticarse en pacientes con retraso mental, sino en el periodo neonatal por las malformaciones congénitas asociadas.

En población infantil comparamos los datos de la serie publicada por Navsaria et al.<sup>281</sup> realizada con niños de 0-13 años referidos para estudio cromosómico con los de nuestra serie en población de la misma edad (figura 37).

El orden de frecuencias de aneuploidías en niños referidos para estudio cromosómico es similar en el estudio realizado por Navsaria et al.<sup>281</sup> que en el nuestro, salvo para las trisomías 13 y 18. Navsaria et al.<sup>281</sup> encuentran con más frecuencia trisomía 18 que trisomía 13 y nosotros más frecuentemente trisomía 13 que 18. Pero las diferencias no son significativas debido al pequeño número de casos diagnosticados por Navsaria et al.<sup>281</sup> (cuatro de trisomía 18 y dos de trisomía 13).



**Figura 37.** Frecuencias (en porcentajes) de anomalías numéricas primarias en pacientes entre 0 y 13 años. (\*)= Navsaria encuentra otras alteraciones en cromosomas sexuales distintas del Turner en un 2,44% de casos, pero no especifica el tipo de alteraciones. T21=trisomía primaria del cromosoma 21, Klinef= síndrome de Klinefelter, T13=trisomía primaria del cromosoma 13, trisomía 18= trisomía 18, T8=trisomía 8

Existen diferencias en el orden de frecuencias entre el estudio de Nielsen et al.<sup>2</sup> en población general y los estudios de Navsaria et al.<sup>281</sup> y el nuestro en población infantil referida para estudio cromosómico. Así, mientras que en la población general la segunda aneuploidía en orden de frecuencia es el síndrome de Klinefelter, en nuestro estudio en población infantil pasa a ocupar el 5º puesto (Navsaria et al.<sup>281</sup> no especifican el número de pacientes con síndrome de Klinefelter). Esto es debido a que este síndrome en muchos casos no se diagnostica hasta la pubertad e incluso la edad adulta. El síndrome de Turner sigue siendo en ambos estudios más frecuente que las trisomías 13 y 18; sin embargo, las diferencias de frecuencias con estas trisomías son menores en los estudios realizados en población infantil referida para estudio citogenético que en los estudios en población general. Esto ocurre porque una parte de los síndromes de Turner no se diagnostican hasta la pubertad o incluso más tarde, aunque el número

de pacientes con síndrome de Turner diagnosticados durante la infancia es mayor que en el síndrome de Klinefelter.

### **b) Relación de sexos en las trisomías autosómicas**

Existen diferencias en la relación varón/mujer en las tres principales trisomías autosómicas (trisomía 21, 18 y 13) con respecto a las cifras halladas en individuos sin cromosomopatías.

La relación varón/mujer en personas sanas es próxima a la unidad, Huether et al.<sup>284</sup> entre 3.660.707 individuos controles encontraron una proporción varón/mujer de 1,05. Sin embargo, diversos autores han observado que el síndrome de Down es más frecuente en varones y la trisomía 18 más frecuente en mujeres, aunque las cifras varían mucho de unas publicaciones a otras. No existe acuerdo con respecto a la relación varón/mujer en pacientes con trisomía 13, mientras algunos autores la encuentran con más frecuencia en varones otros lo hacen en mujeres.

En individuos afectados de síndrome de Down, Huether et al.<sup>284</sup>, revisando 10 series previamente publicadas, observan variaciones en las cifras de las relaciones varón/mujer encontradas por los distintos autores entre 0,90 (n=162) y 1,35 (n=290). Se han publicado cifras incluso superiores, así Navsaria et al.<sup>281</sup>, entre 109 pacientes con trisomía 21, observan una relación varón/mujer de 1,5. Huether et al.<sup>284</sup> realizaron el estudio más amplio, que incluyó a 6424 individuos con trisomía 21, entre los que hallaron una proporción varón/mujer de 1,15. Nosotros, entre 264 pacientes con trisomía 21, encontramos una relación de sexos de 1,2; esta cifra es similar a la hallada por Huether et al.<sup>284</sup>

En pacientes con trisomía 18 también se han observado diferencias entre los datos publicados. Entre las series revisadas por Huether et al.<sup>284</sup>, las cifras de las relaciones varón/mujer oscilaron entre 0,26 (n=143) y 0,43 (n=76). Y ellos, entre 497 pacientes encuentran una proporción de 0,63. Nosotros, entre 16 pacientes afectados de trisomía 18, encontramos una relación varón/mujer de 0,6. Similar a la encontrada por Huether et al.<sup>284</sup>

En cuanto a la trisomía 13, las variaciones en las proporciones varón/mujer encontradas en las publicaciones revisadas por Huether et al.<sup>284</sup> oscilaron entre 0,87 (n=178) y 1,38 (n=19) y estos autores, entre 293 pacientes con trisomía 13, hallaron una proporción de sexos de 0,90. La relación varón/mujer entre los 18 pacientes con trisomía 13 estudiados por nosotros fue 0,5; inferior a todas las series, sin embargo el pequeño número de pacientes incluido en nuestra serie puede arrojar datos poco fiables.

No se conoce la causa de estas diferencias en la proporción de sexos. Huether et al.<sup>284</sup> estudiaron la relación de sexos en nacidos vivos y en diagnóstico prenatal en diferentes edades gestacionales, y revisaron los datos publicados en la literatura, llegando a la conclusión de que existe un exceso de varones en períodos tempranos del embarazo, tanto en controles como en fetos con alteraciones cromosómicas, y que esta proporción se ve disminuida a través de una selección contra los varones. En las concepciones con trisomía 18 existe una sustancial pérdida de varones, mientras que en la trisomía 21 la selección es menor.

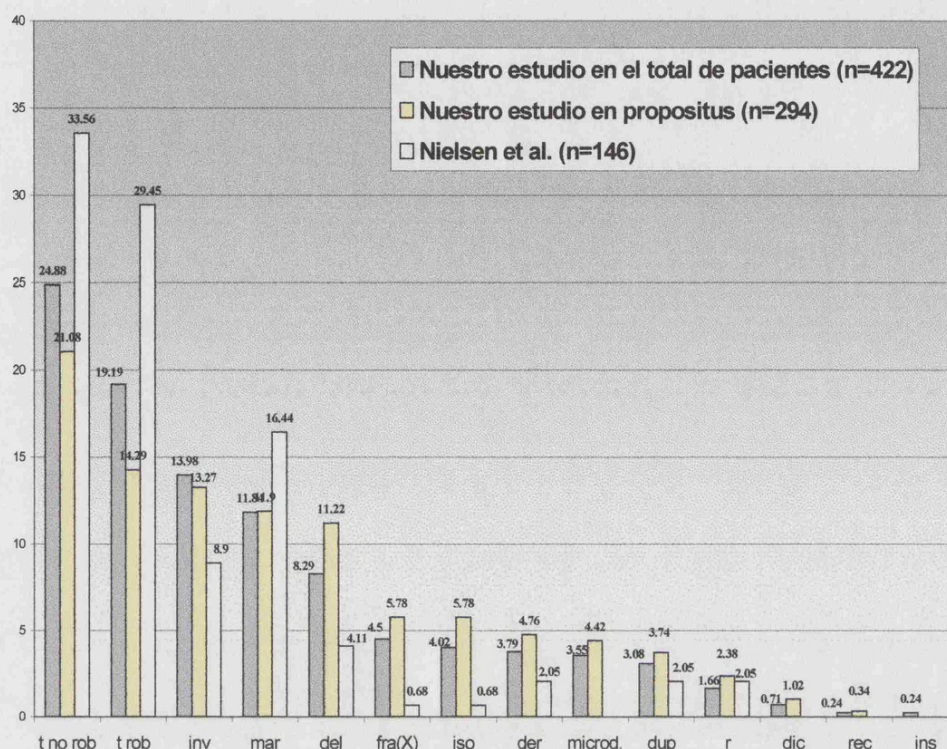
## **2) Cromosomopatías estructurales**

La frecuencia de los distintos tipos de anomalías estructurales varía en función de la población en la que se realiza el estudio. Las alteraciones estructurales balanceadas, debido a que la mayor parte de ellas no se acompañan de repercusión fenotípica, en muchos casos quedan sin diagnosticar; por ello, su frecuencia (sobre el total de anomalías) en estudios realizados en población referida para estudio citogenético es menor que la que existe en la población general. Las anomalías estructurales no balanceadas, en general, se acompañan de repercusión fenotípica y por ello los pacientes suelen ser remitidos para estudio citogenético.

Hemos comparado las frecuencias de las diferentes anomalías estructurales observadas entre nuestros pacientes con las obtenidas por Nielsen et al.<sup>2</sup> en población general. No podemos comparar nuestros datos con las dos series publicadas en población referida para estudio citogenético; ya que Navsaria et al.<sup>281</sup> no especifican las anomalías estructurales que encontraron y Zhang et al.<sup>250</sup>, al incluir en su estudio un número pequeño de pacientes, sólo diagnosticaron 5 casos de alteraciones estructurales.

En la figura 38 se muestran las frecuencias encontrados de las distintas cromosomopatías estructurales por Nielsen et al.<sup>2</sup>, en un estudio realizado en población general y por nosotros entre población referida para estudio citogenético, tanto en el global de pacientes como en pacientes *propósitos*.





**Figura 38.** Frecuencias (en porcentajes) de las distintas anomalías estructurales. T no rob = translocación no robertsoniana, t rob = translocación robertsoniana, inv = inversión, mar = cromosoma marcador, del = deleción, fra(X) = X frágil, iso = isocromosoma, der = cromosoma derivado, microdel = microdeleción, dup = duplicación, r = anillo, dic = dicéntrico, ins = inserción, rec = recombinante

Las translocaciones no robertsonianas fueron las alteraciones estructurales más frecuentes en las tres series, seguida de las translocaciones robertsonianas. En nuestras dos series el tercer lugar lo ocuparon las inversiones y en la de Nielsen et al.<sup>2</sup> los cromosomas marcadores. Aunque Nielsen et al.<sup>2</sup> encuentran con más frecuencia que nosotros reordenamientos equilibrados, las inversiones se vieron con más frecuencia entre nuestros pacientes que entre los estudiados por Nielsen et al.<sup>2</sup> Las anomalías cromosómicas no balanceadas, en la mayoría de los casos, fueron más frecuentes en nuestras series que en la de Nielsen et al.<sup>2</sup>, debido a que una parte muy importante de nuestros pacientes presentaron alteraciones fenotípicas, mientras que en el estudio de Nielsen et al.<sup>2</sup> incluyó principalmente individuos sanos.

La frecuencia de las microdeleciones es probablemente mayor a la que indicamos en nuestros datos, ya que sólo estuvieron disponibles en nuestro laboratorio las técnicas de FISH para su diagnóstico en los 3 últimos de los 16 años del estudio. A pesar de ello, las microdeleciones ocuparon el noveno puesto en orden de frecuencia de las anomalías

estructurales, por delante de las duplicaciones, cromosomas en anillo, dicéntricos, recombinates e inserciones. Nielsen et al.<sup>2</sup> no incluyeron en su estudio los síndromes de microdelección.

Las técnicas de FISH permiten diagnosticar, además de los síndromes de microdelección, otras anomalías estructurales sutiles o submicroscópicas, que afectan con frecuencia a las regiones teloméricas y que no pueden detectarse utilizando las técnicas citogenéticas convencionales. Nosotros, en los tres últimos años del estudio, hemos diagnosticado 3 casos de alteraciones estructurales submicroscópicas de las regiones teloméricas. Probablemente el número de casos existentes entre nuestros pacientes sea mayor, ya que sólo detectamos aquellos en los que el cuadro clínico o el estudio citogenético convencional nos hagan sospechar una alteración en una región telomérica determinada.

La incorporación de las técnicas de FISH en los laboratorios de citogenética ha supuesto un gran avance en el diagnóstico de las alteraciones cromosómicas estructurales, permitiendo, además de la detección de las alteraciones submicroscópicas, la caracterización de anomalías estructurales que no pueden ser correctamente definidas con las técnicas citogenéticas convencionales. La aparición creciente de nuevas sondas comerciales de regiones cromosómicas específicas está permitiendo que el diagnóstico de anomalías estructurales no detectables con los procedimientos convencionales vaya en aumento.

## **II- CROMOSOMOPATÍAS Y ALTERACIONES CLÍNICAS**

**El SEGUNDO OBJETIVO** de esta tesis es **estudiar la frecuencia de cromosomopatías en las distintas anomalías congénitas y en otros desórdenes clínicos.**

### **A- Cromosomopatías en individuos con fenotipo normal**

Las alteraciones cromosómicas pueden estar presentes en personas sin alteraciones fenotípicas. Twan et al.<sup>285</sup>, entre 1405 adultos sanos, encontraron anomalías cromosómicas en 10 casos (0,71%). Nosotros encontramos una frecuencia similar, entre 878 individuos controles sanos observamos alteraciones en el cariotipo en 5 (0,57%).

La frecuencia de cromosomopatías fue mayor entre individuos con fenotipo normal estudiados por tener antecedentes familiares de cromosomopatías, entre 824 individuos encontramos anomalías cromosómicas en 164 (19,9%). También observamos una frecuencia aumentada de anomalías cromosómicas entre individuos sanos estudiados por tener un familiar con alteraciones fenotípicas del que no se conocía el cariotipo, entre las 562 personas encontramos alteraciones cromosómicas en 7 (1,24%). Por tanto, en las personas sanas con antecedentes familiares debe realizarse estudio citogenético, ya que tienen un riesgo aumentado de presentar alteraciones cromosómicas.

Las cromosomopatías que observamos en individuos con fenotipo normal en la mayoría de los casos fueron alteraciones estructurales balanceadas.

En menor número encontramos anomalías no balanceadas, generalmente presentes en mosaico, que afectaban a los cromosomas sexuales, ya que las alteraciones en cromosomas sexuales suelen tener repercusión fenotípica menor que las de los cromosomas autosómicos. Y en un paciente encontramos una alteración numérica en un cromosoma autosómico (monosomía 21) que estaba presente en mosaico, coexistiendo la línea patológica con una línea mayoritaria normal.

Además, en 2 individuos con fenotipo normal diagnosticamos alteraciones estructurales no equilibradas en línea única, que consistían en duplicación de bandas de eucromatina de cromosomas autosómicos. Uno de ellos presentaba una duplicación de la banda p11 del cromosoma 18 y el otro una duplicación en la región proximal del brazo corto del cromosoma 16. La duplicación de material genético de eucromatina de cromosomas autosómicos en línea única

con fenotipo normal es muy rara, pero se han descrito algunos casos. Duplicación de estas regiones de los cromosomas 16<sup>71,72,73,74</sup> y 18<sup>75</sup> se han publicado en individuos sanos. Diversos autores han intentado encontrar las razones que justifiquen la falta de repercusión fenotípica de estas alteraciones. Así, se ha dicho que el material de eucromatina duplicado podría contener genes que fuesen insensibles a la dosis o que la expresión de los genes duplicados estuviese alterada debido a un efecto de posición.<sup>64</sup> Otros autores creen que están involucrados los mecanismos de *genomic imprinting*,<sup>65</sup> que determinan que los genes sometidos a este mecanismo estén activos o inactivos en función del origen paterno o materno de los mismos.<sup>76</sup>

## **B- Cromosomopatías en las alteraciones fenotípicas**

El exceso o defecto de material genético generalmente se acompaña de alteraciones en el fenotipo, el cuadro clínico en cada caso dependerá de los genes incluidos en la región cromosómica que se encuentre en monosomía o trisomía. Habitualmente, las alteraciones que afectan a las bandas G oscuras tienen consecuencias fenotípicas más moderadas que las de las bandas G claras.<sup>80</sup>

Además, las cromosomopatías estructurales balanceadas, en las que no existe ni pérdida ni ganancia de material genético, también pueden conducir a alteraciones clínicas. Esto puede deberse a la existencia de un desequilibrio (pérdida o duplicación) de un tamaño tan pequeño que no pueda detectarse con las técnicas citogenéticas convencionales. O bien, a que exista en otros tejidos un reordenamiento no balanceado.<sup>52</sup> Otras veces las alteraciones fenotípicas presentes en pacientes con cromosomopatías balanceadas son debidas a una pérdida de función de un gen porque el punto de rotura en el cromosoma está situado dentro de ese gen o bien a una alteración de su función debida a un efecto de posición.

Las anomalías cromosómicas pueden conducir a retraso mental, malformaciones congénitas, alteraciones en el crecimiento, anomalías en el desarrollo y diferenciación sexual y a trastornos en la fertilidad. Todas estas alteraciones clínicas también pueden ser producidas por otros factores etiológicos, tanto genéticos como ambientales. En un número importante de casos no llega a conocerse la causa de estos desórdenes.

Las cromosomopatías son responsables de una parte de estas alteraciones, pero la cuantía de la contribución de las anomalías cromosómicas a la producción de estos trastornos varía de unas publicaciones a otras. Además, en muchas alteraciones fenotípicas, revisando la literatura,

no hemos encontrado publicaciones en las que se analice qué porcentaje de casos son debidos a cromosomopatía.

En la tabla 5 se recoge la frecuencia de cromosomopatías en las diferentes alteraciones fenotípicas estudiadas. La primera columna incluye el global de pacientes, la segunda sólo los pacientes que presentaban las anomalías fenotípicas asociadas a otras alteraciones y en la tercera los casos en los que la alteración fenotípica se presentaba de forma aislada. En cada columna, las diferentes anomalías fenotípicas están colocadas en orden decreciente según la frecuencia con que las vimos asociadas a anomalías cromosómicas.

### **1) Retraso mental**

En general, cualquier pérdida o ganancia de material en los cromosomas autosómicos lleva asociada retraso mental. Algunas de las alteraciones en los cromosomas sexuales también pueden ser responsables de retraso psicomotor.

El retraso mental puede tener múltiples etiologías, en torno al 30% de los casos son de causa genética.<sup>246</sup> El porcentaje de pacientes con retraso mental de origen cromosómico varía de unas publicaciones a otras. Zhang et al.<sup>250</sup>, en un estudio realizado en la población general, encontraron cromosomopatías en el 13,2% de los pacientes (20/159). Schreppers et al.<sup>286</sup>, entre pacientes de una institución para retrasados mentales, en el 22,14% (259/1.170). Félix et al.<sup>251</sup> también con enfermos de una institución para retrasados mentales, en el 34,16% (69/202). Y Op't Hof et al.<sup>287</sup>, entre 105 niños afectos de retraso psicomotor de una escuela especial para niños con retraso, en el 17,14%. Entre nuestros pacientes con retraso mental encontramos anomalías cromosómicas en un 13,82% (119/861) de los casos.

Las diferencias en las frecuencias encontradas por los diferentes autores pueden estar influenciadas por la población en la que se ha realizado el análisis. Así, el estudio realizado en la población general por Zhang et al.<sup>250</sup> halla un porcentaje más bajo (13,2%) que los llevados a cabo con pacientes ingresados en instituciones para retrasados mentales como los de Op't Hof et al.<sup>287</sup>, Schreppers et al.<sup>286</sup> y Felix et al.<sup>251</sup> que encontraron 17,14%, 22,14% y 34,16% respectivamente. Probablemente debido a que los pacientes ingresados en instituciones están afectos con mayor frecuencia de retraso mental severo, que se asocia en un número mayor de casos que el leve a cromosomopatías. Así, en el estudio de Felix et al.<sup>251</sup>, que es el que encuentra un porcentaje mayor de pacientes con anomalías cromosómicas, el 91,58% de los pacientes presentan retraso mental severo. Nuestro estudio está realizado en un centro

Alteraciones fenotípicas							
Totales			Asociadas a otras alt			Aisladas	
	Total	% con cr		Total	% con cr		Total % con cr
Ed pie	13	53,84%	Ed pie	11	63,64%	Rasgos	420 36,19%
Polidact	21	38,09%	Azoosp	109	51,38%	Lax art	6 16,66%
Cardiop	224	33,04%	Intersex	5	40%	Azoosp	136 15,44%
Azoosp	245	31,42%	Polidact	21	38,09%	Ameno 1ª	41 14,63%
Digest	71	30,9%	Cardiop	209	34,93%	Renal	14 14,28%
Rasgos	1448	28,59%	Digest	65	33,85%	Microc	31 12,9%
T alta	57	24,56%	Ameno 1ª	50	32%	Ameno	77 11,68%
Ameno 1ª	91	24,17%	Ameno	66	30,30%	Conv	18 11,11%
Renal	85	23,52%	T alta	49	28,57%	Ameno 2º	37 8,1%
Ameno	143	20,27%	Ameno 2º	15	26,66%	Cardiop	15 6,66%
Esquel	251	17,92%	Rasgos	1028	25,49%	R mental	242 6,19%
Pulm	12	16,67%	Renal	71	25,35%	Alt piel	17 5,88%
Ocular	79	16,45%	G fem	56	25%	Pub re	19 5,26%
SNC	140	16,42%	L lep/ph	95	24,21%	SNC	43 4,65%
L lep/ph	140	16,42%	Ocular	57	22,81%	Oligosp	43 4,65%
G fem	98	15,31%	Esquel	191	22,51%	T baja	492 4,06%
G mas	305	14,4%	SNC	97	21,65%	Esquel	60 3,33%
R mental	861	13,82%	G mas	204	21,57%	G mas	101 2,97%
Microc	111	13,51%	Pulm	10	20%	Intersex	38 2,63%
Ameno 2ª	52	13,46%	Ginecom	67	17,91%	Tumor	239 2,51%
Artrogr	18	11,11%	R mental	619	16,80%	G fem	42 2,38%
Sindact	32	9,37%	Tumor	21	14,28%	Criptor	693 1,87%
Ginecom	129	9,3%	Microc	80	13,75%	Digest	6 0%
Conv	72	8,33%	T baja	377	13,53%	Pulm	2 0%
T baja	869	8,17%	Artrogr	8	11,11%	Ocular	22 0%
Alt piel	83	7,23%	Pub pre	9	11,11%	Macro	6 0%
Hiposp	100	7%	Oligosp	19	10,53%	Sindact	2 0%
Intersex	43	6,98%	Sindact	30	10%	L lep/ph	45 0%
Oligosp	62	6,45%	Hiposp	74	9,46%	Artrogr	10 0%
Hlax art	53	5,6%	Alt piel	66	7,58%	T alta	8 0%
Macro	55	5,45%	Conv	54	7,41%	Ed pie	2 0%
Pub re	107	4,67%	Criptor	223	6,28%	Pub pre	24 0%
Tumor	260	3,46%	Macro	49	6,12%	Hiposp	26 0%
Pub pre	33	3,03%	Pub re	88	4,53%	Ginecom	62 0%
Criptor	916	2,94%	Lax art	47	4,25%	Polidact	0 0%

**Tabla 5.** Alt=alteraciones, % con cr=% de pacientes con cromosomopatías, Ed pie=edema en el dorso del pie al nacimiento, Polidact=polidactilia, Cardiop=cardiopatía, Azoosp=azoospermia, Digest=alteraciones digestivas, Rasgos=rasgos fenotípicos, T=talla, Ameno=amenorrea, 1ª=primaria, 2ª=secundaria, Renal= alteraciones renales, Esquel= alteraciones esqueléticas, Pulm=alteraciones pulmonares, Ocular= anomalías oculares, SNC=alteraciones en sistema nervioso central, L lep/ph= labio leporino y/o paladar hendido, G. fem= genitales femeninos, G mas= genitales masculinos, R= retraso, Microc= microcefalia, Artrogr= artrogriposis, Sindact= sindactilia, Ginecom= ginecomastia, Conv=convulsiones, Alt=alteraciones en, Hiposp=hipospadias, Oligosp=oligospermia, Hlax art= hiperlaxitud articular, Macro=macrocefalia, Pub =pubertad, re.=retrasada, pre=precoz, Criptor= criptorquidia.

hospitalario efectuándose estudio citogenético tanto a pacientes en el período neonatal, como a enfermos ingresados y a pacientes remitidos desde las consultas externas del Hospital y de todo el área sanitaria. No hemos encontrado ninguna serie publicada que estudie pacientes atendidos en el Hospital.

El síndrome de Down es la principal causa cromosómica de retraso mental.<sup>246</sup> Supuso el 64,48% de todos los pacientes con retraso mental de causa cromosómica estudiados por Schreppers et al.<sup>286</sup>, el 94,20% de la serie de Felix et al.<sup>251</sup> y el 47,06% de los estudiados por nosotros. Entre nuestros pacientes, aunque el síndrome de Down fue la principal causa de retraso mental, la frecuencia con que lo encontramos fue menor que en otras series, debido a que la mayor parte de los casos de síndrome de Down en nuestro centro hospitalario son diagnosticados en el período neonatal o en los primeros meses de vida (el 73,11% en el período neonatal y el 79,55% en el primer año de vida) cuando aún no se ha hecho evidente el retraso mental.

Excluyendo del estudio el síndrome de Down, Schreppers et al.<sup>286</sup> encuentran cromosomopatías en el 9,17% de los pacientes con retraso mental (92/1003) y nosotros en el 7,83% (63/805). Sin embargo, Félix et al.<sup>251</sup> observan alteraciones cromosómicas sólo en 2,92% (4/137) de los casos.

Cuando el retraso mental se presenta como alteración fenotípica aislada, el porcentaje de pacientes con cromosomopatías es menor. Entre los pacientes de nuestro estudio en 242 casos el retraso mental fue la única anomalía fenotípica observada, en sólo 15 de ellos (6,19%) hallamos alteraciones cromosómicas. No hemos encontrado datos publicados sobre la frecuencia de cromosomopatías en individuos con retraso mental aislado.

En los últimos años, gracias a la incorporación de las técnicas de FISH y otras técnicas moleculares, se ha visto que una parte de los retrasos mentales, hasta hace poco tiempo llamados idiopáticos, son debidos a anomalías cromosómicas submicroscópicas que no pueden ser diagnosticadas con el estudio citogenético convencional. Dentro de estas alteraciones submicroscópicas se incluyen la mayor parte de los síndromes de microdelección. Pero, además, un número importante de los retrasos mentales “idiopáticos” son causados por alteraciones cromosómicas submicroscópicas no balanceadas de las regiones subteloméricas. Así, Flint et al.<sup>253</sup>, en un estudio con 99 individuos con retraso mental de causa desconocida, encontraron 3 pacientes con estas anomalías. Nosotros, mediante FISH, diagnosticamos 2 casos de alteraciones estructurales de las regiones teloméricas responsables de retraso mental: un paciente con una delección terminal del brazo largo del cromosoma 13 y otro paciente con un cromosoma 13



derivado de una translocación entre los cromosomas 13 y 7 maternos que involucraba las regiones teloméricas de ambos cromosomas.

No podemos estudiar el porcentaje de casos en los que el retraso mental fue debido a alteraciones estructurales submicroscópicas, ya que una gran parte de nuestros pacientes fueron estudiados cuando no estaban disponibles las técnicas de FISH. Además, actualmente tampoco podemos diagnosticar todos los casos existentes, sólo detectamos aquellos en los que se sospeche la anomalía en el estudio citogenético de alta resolución o por los datos clínicos, ya que es en estos casos cuando se hace estudio de FISH con una sonda de ADN específica para la región que queremos estudiar. Los dos pacientes diagnosticados en nuestro servicio se sospecharon por la presencia en ambos de déficit de factores VII y X de la coagulación, cuyos genes se encuentran situados en la región distal del brazo largo del cromosoma 13, el diagnóstico se confirmó con FISH utilizando una sonda específica para la región telomérica de dicho cromosoma, que demostró la ausencia de esta región en uno de los dos cromosomas 13 en ambos casos. Se estima que un 6-8% de los retrasos mentales “idiopáticos” son debidos a reordenamientos cromosómicos de las regiones teloméricas, no visibles con las técnicas citogenéticas convencionales.<sup>253,288</sup>

Las series publicadas sobre frecuencia de cromosomopatías en pacientes con retraso mental no incluyen estas alteraciones cromosómicas submicroscópicas. Por tanto, el porcentaje de retrasos mentales de causa cromosómica es mayor de lo que se ha venido publicando hasta ahora. La incorporación progresiva de nuevas técnicas de citogenética molecular en la rutina de los laboratorios de genética permitirá acercarnos a la verdadera implicación de las cromosomopatías en la génesis de los retrasos mentales.

## **2) Rasgos fenotípicos**

Los rasgos fenotípicos están frecuentemente presentes en pacientes con síndromes. En algunos casos son característicos de un síndrome concreto, como ocurre con la trisomía 21, siendo el dato más importante para la sospecha de síndrome de Down.

No hemos encontrado en la literatura ningún trabajo que analice la frecuencia de cromosomopatías entre individuos con rasgos fenotípicos. Entre nuestros pacientes (n=1448) encontramos una frecuencia alta (28,59%) de anomalías cromosómicas y aún mayor (36,19%) entre los individuos con rasgos fenotípicos no asociados a otras anomalías (n=420). De modo que en nuestro estudio los rasgos fenotípicos fueron la sexta anomalía que con mayor frecuencia se asoció a cromosomopatías y la primera entre las anomalías fenotípicas aisladas.



La alta frecuencia de cromosomopatías entre pacientes con rasgos fenotípicos fue debida fundamentalmente al síndrome de Down, ya que la trisomía 21 fue la anomalía cromosómica más frecuentemente encontrada en ellos. Si excluimos del estudio los pacientes con síndrome de Down, sólo el 12,66% de los pacientes con rasgos fenotípicos y el 3,7% de los que tenían rasgos fenotípicos como única alteración presentaron cariotipo patológico.

### **3) Malformaciones congénitas**

Las cromosomopatías son una causa importante de malformaciones congénitas. En una serie de 3898 neonatos malformados, estudiados por Bermejo et al.<sup>254</sup>, las anomalías cromosómicas fueron la etiología más frecuente de malformaciones congénitas, siendo las responsables del 34,63% de los casos.

En nuestra serie se encontró una frecuencia inferior a la observada por Bermejo et al.<sup>254</sup> Entre 2587 niños con malformaciones congénitas encontramos alteraciones cromosómicas en 208 (8,04%). Observamos una frecuencia más alta en el subgrupo de niños menores de un año, entre 863 niños de esta edad 124 (14,37%) presentaban anomalías cromosómicas. Probablemente el porcentaje sería aún mayor si analizásemos niños cuya malformación se diagnosticó en los primeros días de vida, como los estudiados por Bermejo et al.<sup>254</sup>, pero este estudio no pudimos realizarlo porque en nuestra base de datos de pacientes sin alteraciones cromosómicas no se especificó cuáles pacientes con edad menor de un año estaban en el período neonatal. Por otra parte, los datos de Bermejo et al.<sup>254</sup> corresponden a un estudio multicéntrico, en el que se incluyeron 24303 niños malformados, entre los cuales sólo a 3898 se les había realizado estudio citogenético, los porcentajes están referidos al grupo de pacientes con estudio citogenético. Es probable que en los centros donde no existía Servicio de Genética, y necesitasen por ello solicitar el cariotipo a otro centro, seleccionasen los pacientes que remitían, realizándose estudio cromosómico principalmente a aquellos enfermos en los cuales existía una mayor sospecha de cromosomopatía y, por tanto, estos datos no reflejen la realidad de los porcentajes de malformaciones congénitas diagnosticadas en período neonatal debidas a cromosomopatías. En nuestro estudio, la selección de los pacientes a los que se les solicita cariotipo es menor, debido a que el estudio citogenético se realiza en el propio hospital. Pero existe también una selección, ya que no todas las malformaciones congénitas aisladas son estudiadas en el servicio de genética y, sin embargo, la mayor parte de los neonatos con dos o más anomalías congénitas son remitidos para estudio citogenético. Las alteraciones cromosómicas son mucho más frecuentes entre individuos con más de una malformación congénita. Así, en nuestra serie, entre los 238 pacientes

menores de un año con dos o más malformaciones congénitas, el 24,37% tenían cromosomopatías; mientras que entre los 625 pacientes menores de un año con una sola malformación congénita sólo el 10,56% presentaron alteraciones cromosómicas.

Al igual que ocurre con el retraso mental, las malformaciones congénitas pueden ser debidas a alteraciones cromosómicas submicroscópicas que no pueden ser diagnosticadas por las técnicas citogenéticas convencionales y que requieren otras técnicas como la FISH para su detección. Nosotros, en pacientes con malformaciones, hemos diagnosticado dos casos de alteraciones estructurales submicroscópicas de las regiones teloméricas, además de 12 casos de síndromes de microdelección.

#### **a) Cardiopatías**

Las cardiopatías son las malformaciones congénitas más frecuentes<sup>255</sup>, una parte importante son causadas por alteraciones cromosómicas. En nuestra serie, las cardiopatías fueron las malformaciones que ocuparon el segundo lugar en orden de frecuencia de asociación a cromosomopatías.

Goodship et al.<sup>183</sup>, en un estudio realizado en población general, entre 207 neonatos con cardiopatía, encontraron anomalías cromosómicas en el 13,04%. Ferencz et al.<sup>289</sup>, también en un estudio poblacional, entre 2102 recién nacidos con malformaciones cardiovasculares, encontraron 271 (12,89%) con anomalías cromosómicas. Nosotros, en un estudio con pacientes referidos para estudio citogenético, encontramos cromosomopatías en 74 de entre 224 individuos con cardiopatía (33,04%). La frecuencia es muy superior a la encontrada por Goodship et al.<sup>183</sup> (13,04%) y por Ferencz et al.<sup>289</sup> (12,89%).

La razón de estas diferencias probablemente esté en las características de la población estudiada; ya que en nuestra serie el 93,30% de los pacientes (209/224) presentaban, además de la cardiopatía, otras alteraciones asociadas; mientras que en la serie de Ferencz et al.<sup>289</sup> sólo el 26,78% tenían anomalías asociadas. Goodship et al.<sup>183</sup> no informan de qué parte de sus pacientes presentaban otras alteraciones además de la cardiopatía, pero debido a que se trata de un estudio realizado en población general posiblemente sea menor que en nuestra serie.

En los pacientes con cardiopatía aislada la frecuencia de cromosomopatías es muy inferior a la de los pacientes que presentan anomalías asociadas. En nuestro estudio sólo uno de los 15 pacientes en los que la cardiopatía era la única alteración fenotípica presentó anomalías citogenéticas y en la serie de Ferencz et al.<sup>289</sup> ninguno de entre los 1540 pacientes con cardiopatía aislada. Sin embargo, cuando existían anomalías asociadas a la cardiopatía encontramos

cromosomopatías en el 34,93% de los pacientes de nuestra serie (n= 209) y en el 48,13% de los estudiados por Ferencz et al.<sup>289</sup> (n=563).

La causa cromosómica más frecuente de cardiopatía fue el síndrome de Down en las tres series. Le siguieron en orden decreciente de frecuencias en el estudio de Goodship et al.<sup>183</sup> las microdeleciones en 22q11 (CATCH 22), el síndrome de Turner, las microdeleciones en 7q11.23 (síndrome de Williams) y la trisomía 18. En el de Ferencz et al.<sup>289</sup> la trisomía 18, trisomía 13 y el síndrome de Turner. Y en nuestra serie la trisomía 13, la trisomía 18, el síndrome de Williams, las microdeleciones en 22q11 y el síndrome de Turner.

En la serie de Goodship et al.<sup>183</sup> el segundo lugar lo ocuparon las microdeleciones en 22q11. En la nuestra estas microdeleciones se situaron en quinto lugar, debido probablemente a que sólo hicimos técnicas de FISH para su diagnóstico en los 3 últimos años del estudio. Ferencz et al.<sup>289</sup> no incluyeron en su serie el diagnóstico por FISH de estas microdeleciones.

Las trisomías 13 y 18 ocupan el tercer y cuarto puesto en la serie de Ferencz et al.<sup>289</sup> y en la nuestra, sin embargo en la de Goodship et al.<sup>183</sup> sólo se diagnosticó un caso de trisomía 18 y ninguno de trisomía 13. Quizá en esta diferencia intervengan los años en los que fueron realizados los estudios, ya que la incidencia de estos síndromes ha ido disminuyendo debido al diagnóstico prenatal. El estudio de Ferencz et al.<sup>289</sup> incluyó pacientes vistos en 1981-1986 y el nuestro en 1984-1999, mientras que el de Goodship et al.<sup>183</sup> es más reciente, se realizó con individuos nacidos entre 1994 y 1995. En nuestro estudio, el 75% de los casos de trisomías 13 y 18 se diagnosticaron los 6 primeros años (1984-1989) de los 16 que incluyó el estudio y el 93,75% antes de 1994 (año en el que se realizó el estudio de Goodship et al.<sup>183</sup>).

#### **b) Paladar hendido y/o labio leporino**

Las hendiduras orofaciales son una de las anomalías congénitas más frecuentes.<sup>290</sup>

Tolarova et al.<sup>290</sup>, en un estudio realizado con 2.509.881 recién nacidos, entre 4433 casos de labio leporino y/o paladar hendido encontraron anomalías cromosómicas en 390 (8,80%). Stoll et al.<sup>291</sup>, en otro estudio con población general, diagnosticaron 207 casos de labio leporino y/o paladar hendido, entre los cuales realizaron cariotipo a 95, en 14 de ellos (14,74%) existían cromosomopatías. Nosotros, entre 140 pacientes con labio leporino y/o paladar hendido encontramos cariotipo patológico en 23 (16,42%).

La frecuencia de alteraciones cromosómicas en pacientes con labio leporino y/o paladar hendido es similar en la serie de Stoll et al.<sup>291</sup> y en la nuestra. Pero la observada por Tolarova et al.<sup>290</sup> es inferior. En estas diferencias probablemente influya la población estudiada, así en el

estudio de Tolarova et al.<sup>290</sup>, el 61,63% de los pacientes presentaban paladar hendido y/o labio leporino como anomalía aislada, mientras que en el de Stoll et al.<sup>291</sup> la alteración aislada se vio sólo en el 20% de los casos y en el nuestro estudio en el 32,14%.

Entre individuos con labio leporino y/o paladar hendido aislado no se encontró ningún caso de alteración cromosómica ni en la serie de Stoll et al.<sup>291</sup> ni en la nuestra. Entre pacientes con otras alteraciones asociadas Stoll et al.<sup>291</sup> observaron cromosomopatías en el 18,42% (14/76) y nosotros en el 24,21% (23/95). Por tanto, las cromosomopatías son una causa poco frecuente de labio leporino y/o paladar hendido aislado, pero cuando el labio leporino y/o paladar hendido se asocia a otras anomalías las cromosomopatías son un factor etiológico importante.

La alteración cromosómica que con más frecuencia es responsable de labio leporino y/o paladar hendido es la trisomía 13. Entre los pacientes con cariotipo patológico en la serie de Tolarova et al.<sup>290</sup> supuso el 32,82% de los casos (128/390), en la de Stoll et al.<sup>291</sup> el 42,86% (6/14) y en la nuestra el 60,87% (14/23).

### c) Criptorquidia

Es una de las anomalías más comunes de los genitales externos masculinos. Varios estudios realizados en pacientes con criptorquidia observan una baja frecuencia de alteraciones cromosómicas en ellos. Sasagawa et al.<sup>292,293</sup> encuentran cromosomopatía en el 2,50% (4/160) de los pacientes con criptorquidia estudiados, Yamaguchi et al.<sup>294</sup> en el 6,52% (6/92) y nosotros en el 2,94% (27/916). En nuestra serie fue la anomalía congénita en la que encontramos la frecuencia más baja de cromosomopatías. A pesar de ello, fue la segunda anomalía, detrás de los rasgos fenotípicos, que más frecuentemente fue remitida para estudio citogenético (916 pacientes de entre los 5451 que estudiamos por presentar alteraciones fenotípicas).

En la serie de Sasagawa et al.<sup>292</sup> y en la nuestra se observa una frecuencia similar de cromosomopatías entre pacientes con criptorquidia. Yamaguchi et al.<sup>294</sup> encuentra una frecuencia superior, que está en relación probablemente con la cantidad de pacientes incluidos con otras alteraciones asociadas a la criptorquidia, ya que la frecuencia de cromosomopatías aumenta significativamente cuando la criptorquidia se presenta junto a otras anomalías congénitas. Así, entre pacientes con criptorquidia aislada, Yamaguchi et al.<sup>294</sup> encontraron alteraciones en los cromosomas en el 2% de los casos (1/51) y nosotros en el 1,88% (13/693). Mientras que cuando existían anomalías asociadas, Yamaguchi et al.<sup>294</sup> encuentra alteraciones en el cariotipo en el 12,19% de los pacientes (5/41) y nosotros en el 6,28% (14/223). Sasagawa et al.<sup>292</sup> no especifica en su publicación qué parte de sus pacientes presentaban anomalías asociadas.

No parece que existan diferencias en la frecuencia de cromosomopatías entre pacientes con criptorquidia bilateral y unilateral. Yamaguchi et al.<sup>294</sup> encontraron alteraciones cromosómicas en el 8,33% (3/36) de los pacientes con criptorquidia bilateral y en el 5,36% (3/56) de los casos de criptorquidia unilateral (estas diferencias no fueron significativas). Sasagawa et al.<sup>292</sup> en el 1,81% (2/110) de las criptorquidias unilaterales y en el 4% (2/50) de las bilaterales (tampoco fueron significativas estas diferencias). Y nosotros, en una serie más amplia que las anteriores, observamos anomalías en el cariotipo en 5 (2,91%) de entre 172 pacientes con criptorquidia bilateral y en 22 (2,96%) de entre 744 pacientes con criptorquidia unilateral.

Las cromosomopatías que más frecuentemente se vieron asociadas a criptorquidia fueron las que involucraban a los cromosomas sexuales, estaban presentes en 3 de los 6 casos diagnosticados por Yamaguchi et al.<sup>294</sup>, en uno de los 4 del estudio de Sasagawa et al.<sup>292</sup> y en 17 de los 27 estudiados por nosotros. Fundamentalmente el síndrome de Klinefelter que se diagnosticó en 2 de los 6 pacientes de la serie de Yamaguchi et al.<sup>294</sup>, en uno de los 4 de la de Sasagawa et al.<sup>292</sup> y en 12 de los 27 de la nuestra.

#### **d) Hipospadias y/o epispadias**

Las cromosomopatías se vieron con más frecuencia entre individuos con hipospadias/epispadias que entre los que tenían criptorquidia. Yamaguchi et al.<sup>294</sup> entre 27 pacientes con hipospadias/epispadias encontraron anomalías cromosómicas en 3 (11,11%) y nosotros entre 100 pacientes en 7 (7%).

Las alteraciones en el cariotipo fueron más frecuentes cuando las hipospadias/epispadias estaban asociadas a otras anomalías congénitas. En pacientes con hipospadias/epispadias aisladas Yamaguchi et al.<sup>294</sup> encontraron cromosomopatías en el 7,14% de los casos (1/14) y nosotros en ninguno de los 26 pacientes estudiados. Mientras que entre pacientes con otras anomalías congénitas asociadas Yamaguchi et al.<sup>294</sup> observaron alteraciones citogenéticas en el 15,38% de los casos (2/13) y nosotros en el 9,46% (7/74).

Las cromosomopatías que se vieron con más frecuencia en pacientes con hipospadias/epispadias fueron las que involucraban a los cromosomas sexuales, estaban presentes en el 42,86% (3/7) de nuestros pacientes con cromosomopatía y en los 3 pacientes con alteraciones cromosómicas del estudio de Yamaguchi et al.<sup>294</sup>

#### **e) Genitales ambiguos (fenotipo intersexual)**

La presencia de genitales ambiguos se asocia con poca frecuencia a anomalías citogenéticas. En ninguno de los 101 pacientes estudiados por Al-Mutair et al.<sup>295</sup> y en sólo 3 (6,98%) de entre los 43 pacientes de nuestra serie se hallaron cromosomopatías.

Entre pacientes sin anomalías cromosómicas en los dos estudios fue más frecuente el cariotipo masculino que el femenino. Se encontró cariotipo masculino en el 55,45% (56/101) de los pacientes estudiados por Al-Mutair et al.<sup>295</sup> y en el 65% (26/40) de los nuestros.

#### **f) Polidactilia:**

La polidactilia fue la malformación congénita en la que con más frecuencia (38,09%) encontramos cromosomopatías, pero el pequeño número de pacientes estudiados (21) hace que los resultados obtenidos sean poco fiables. Además, todos los casos de polidactilia de nuestra serie presentaban otras malformaciones asociadas. Castilla et al.<sup>296</sup>, entre 50 casos de polidactilia en pacientes con síndromes en 11 (22%) observaron anomalías cromosómicas.

La cromosomopatía que con más frecuencia se vio en individuos con polidactilia fue la trisomía 13, que estaba presente en 6 de los 11 pacientes (54,54%) con cariotipo patológico de la serie de Castilla et al.<sup>296</sup> y en 5 de los 8 (62,50%) de la nuestra.

#### **g) Otras malformaciones congénitas**

En el resto de las malformaciones congénitas que incluimos en nuestro estudio no encontramos en la literatura ningún estudio que analizase la frecuencia de casos debidos a cromosomopatías.

En pacientes con malformaciones en el aparato digestivo se encontró una frecuencia alta (30,9%) de anomalías cromosómicas, siendo las terceras malformaciones congénitas que con más frecuencia se vieron asociadas a cromosomopatías, después de las polidactilias y las cardiopatías. En la mayor parte de los pacientes estudiados (65 de entre 71) las alteraciones digestivas estaban asociadas a otras anomalías fenotípicas y ninguno de los 6 pacientes con malformaciones en aparato digestivo aisladas presentaron cromosomopatías. La alteración cromosómica que con más frecuencia vimos en pacientes con malformaciones del aparato digestivo fue el síndrome de Down (en 14 de entre 22 pacientes). La frecuencia de alteraciones cromosómicas en pacientes con malformaciones digestivas disminuye si excluimos del estudio el síndrome de Down. Así, entre los 57 pacientes restantes sólo 8 (14,03%) presentaron cariotipo patológico.

Las malformaciones renales ocuparon el cuarto puesto en frecuencia de asociación a cromosomopatías y el primer puesto cuando se estudiaron pacientes con malformaciones

aisladas, aunque entre estos últimos el número de casos estudiados con malformaciones renales fue pequeño (14) y, por tanto, los resultados poco fiables. Encontramos alteraciones en el cariotipo en el 23,52% de los pacientes (20/85) con malformaciones renales, en el 25,35% (18/71) de los que tenían anomalías asociadas y en el 14,28% (2/14) de los que no tenían otras malformaciones congénitas asociadas. Las cromosomopatías que vimos con más frecuencia entre pacientes con anomalías renales fueron la trisomía 21 (3/20), el síndrome de Turner (3/20), la trisomía 18 (2/20) y la delección del brazo corto del cromosoma 18 (2/20). En un paciente diagnosticamos una microdelección en 22q11.2. Las microdelecciones en esta región cromosómica conducen a una gran variedad de anomalías fenotípicas, se han publicado varios casos de microdelección en 22q11.2 en pacientes con alteraciones renales.<sup>188,189</sup>

Otras malformaciones congénitas se asociaron con menor frecuencia a cromosomopatías: anomalías esqueléticas (17,92%), pulmonares (16,67%), oculares (16,45%), en sistema nervioso central (16,42%), en genitales femeninos (15,31%), en genitales masculinos distintas de criptorquidia e hipospadias (14,4%), microcefalia (13,51%), artrogriposis (11,11%), sindactilia (9,37%) y macrocefalia (5,45%).

La anomalía congénita que se asoció con menor frecuencia a cromosomopatías fue la criptorquidia (2,94%).

#### **4) Talla baja**

La principal causa citogenética de talla baja es el síndrome de Turner, pero también otras alteraciones, tanto en los cromosomas sexuales como en los autosómicos, pueden conducir a ella.

Revisando la literatura, no hemos encontrado ningún trabajo que analice la frecuencia de cromosomopatías entre individuos con talla baja, salvo el realizado por Gicquel et al.<sup>115</sup> que, mediante técnicas moleculares (Southern blot), estudiaron la presencia de alteraciones en el cromosoma X en 375 mujeres con talla baja, en el 4,8% (18/375) de ellas encontraron anomalías.

Nosotros, entre los 869 pacientes estudiados con talla baja, observamos cromosomopatías en el 8,17%. Pero hallamos importantes variaciones en la frecuencia de alteraciones cromosómicas en función del sexo y de la existencia o no de antecedentes familiares o de otras anomalías asociadas a la talla baja.

Las cromosomopatías fueron más frecuentes en mujeres que en varones. Las observamos en el 10,04% de las mujeres y en sólo el 2,59% de los varones.

Encontramos una frecuencia mayor de alteraciones citogenéticas entre pacientes sin antecedentes familiares de talla baja que entre los que sí tenían antecedentes. El 19,46% de las

mujeres y el 8,33% de los varones sin antecedentes familiares presentaban anomalías en el cariotipo. Pero, sólo el 4,52% de las mujeres y el 1,58% de los varones con antecedentes familiares tenían alteraciones cromosómicas.

En mujeres, las cromosomopatías fueron más frecuentes cuando existían anomalías asociadas a la talla baja, sin embargo en varones no se encontraron diferencias significativas. El 4,36% de las mujeres y el 2,5% de los varones con talla baja aislada presentaban cariotipo patológico. Cuando además de talla baja existían otras alteraciones la frecuencia de cromosomopatías fue del 20,44% en mujeres y del 2,64% en varones.

En mujeres, las cromosomopatías que encontramos con más frecuencia fueron las que involucraban al cromosoma X. Entre 64 mujeres con talla baja y cariotipo patológico, 48 (75%) presentaron anomalías en el cromosoma X. En 2 de los 6 varones (33,33%) que presentaban alteraciones citogenéticas el cromosoma implicado era el Y.

### **5) Talla alta**

No hemos encontrado estudios que analicen la frecuencia de anomalías cromosómicas entre sujetos con talla alta. En nuestra serie no se vieron cromosomopatías entre los 8 individuos que estudiamos con talla alta aislada. Entre los 57 pacientes que presentaban anomalías asociadas observamos una frecuencia de cromosomopatías del 24,56% (14/57).

La principal causa cromosómica de talla alta fue el síndrome de Klinefelter, que estaba presente en 10 de los 14 pacientes con cariotipo patológico (71,43%).

### **6) Amenorrea**

La amenorrea se asocia con frecuencia a cromosomopatías que involucran fundamentalmente al cromosoma X.

En mujeres con amenorrea primaria, Opitz et al.<sup>269</sup> encontraron alteraciones cromosómicas en el 28,41% de los casos (25/88), Temocin et al.<sup>270</sup> en el 26,4% (18/68) y Chryssikopoulos et al.<sup>271</sup> en el 28,5% (25/77). En nuestro estudio observamos una frecuencia similar a la de las series anteriores, entre 91 mujeres con amenorrea primaria existía cariotipo patológico en 22 (24,17%).

En pacientes con amenorrea secundaria, Opitz et al.<sup>269</sup> encuentran cromosomopatías en el 33% de los casos (5/15) y Temocin et al.<sup>270</sup> en el 11,1% (1/9). Las diferencias en las frecuencias observadas pueden explicarse por el bajo número de mujeres incluidas en estas dos series. Nosotros estudiamos un número mayor y hallamos frecuencias similares a las de la serie de



Temocin et al.<sup>270</sup>, entre las 52 pacientes con amenorrea secundaria encontramos alteraciones citogenéticas en 7 (13,46%).

Por tanto, las cromosomopatías parecen ser más frecuentes en la amenorrea primaria que en la secundaria. Pero el número bajo de pacientes de las series publicadas no permite extraer conclusiones definitivas.

En todos los estudios las cromosomopatías observadas correspondieron en la mayoría de los casos a alteraciones en los cromosomas sexuales, bien presencia de un cariotipo masculino o de una línea celular con cariotipo masculino o bien diversas alteraciones numéricas y/o estructurales del cromosoma X.

### **7) Ginecomastia**

La ginecomastia se produce como consecuencia de trastornos en las hormonas sexuales, que pueden estar presentes en sujetos con alteraciones cromosómicas.

Estudiando pacientes con ginecomastia, Sher et al.<sup>297</sup> observaron cromosomopatías en el 5% de los casos (3/60) y nosotros en el 9,30% (12/129).

Las diferencias en las frecuencias encontradas pueden explicarse por la población analizada en cada serie, Sher et al.<sup>297</sup> estudiaron pacientes en el período puberal incluyendo en su serie niños mayores de 9 años. Si excluimos de nuestra serie a los niños menores de nueve años y a los adultos, observamos una frecuencia de cromosomopatía de 4,76% (5/105), muy similar a la encontrada por Sher et al.<sup>297</sup> (5%).

En nuestro estudio, la frecuencia de cromosomopatías fue menor entre individuos en el período puberal que en los otros dos grupos etarios. Así, observamos alteraciones en el cariotipo en el 9,09% (1/11) de los niños menores de 9 años y en el 46,15% (6/13) de los adultos. No encontramos ningún estudio publicado que analice la frecuencia de anomalías cromosómicas en estas edades. La existencia de una frecuencia más baja de cromosomopatías entre los pacientes estudiados en la pubertad es debido a que la ginecomastia puede formar parte del desarrollo puberal normal del varón, ocurriendo en un 60% de los casos.

Las cromosomopatías fueron más frecuentes cuando existían otras anomalías asociadas. En nuestra serie en ninguno de los 62 pacientes con ginecomastia aislada observamos alteraciones en el cariotipo, mientras que, entre los 67 pacientes que tenían otras alteraciones asociadas 12 (17,91%) presentaron anomalías citogenéticas. Sher et al.<sup>297</sup> no especifican que número de pacientes de su estudio presentaban anomalías asociadas.

El síndrome de Klinefelter fue la principal causa cromosómica de ginecomastia, se diagnosticó en 2 de los 3 pacientes con alteraciones citogenéticas de la serie de Sher et al.<sup>297</sup> y en 11 de los 12 de nuestra serie.

### **8) Edema del dorso del pie al nacimiento**

En pacientes con síndrome de Turner es característico la presencia de edema en el dorso del pie al nacimiento. No hemos encontrado ninguna publicación que estudie la frecuencia de cromosomopatías en estos pacientes.

En nuestra serie fue la alteración fenotípica que con más frecuencia (53,84%) se asoció a alteraciones en el cariotipo, aunque el número de casos estudiados fue pequeño (13) y, por tanto, los resultados deben analizarse con cautela.

No encontramos cromosomopatía en ninguna de las 2 pacientes en las que el edema en el dorso del pie existía como única anomalía fenotípica. Sin embargo, entre las 11 pacientes con otras alteraciones fenotípicas asociadas, en 7 (63,64%) existía un cariotipo patológico, en 6 de los casos síndrome de Turner. Cinco de las seis pacientes con síndrome de Turner presentaban asociado al linfedema rasgos fenotípicos característicos del síndrome, en 4 de ellas existía además talla baja al nacimiento, y en el sexto caso la única alteración asociada fue trombopenia.

Aunque el número de pacientes estudiadas es pequeño, los resultados que hemos obtenido parecen indicar que la presencia de edema del dorso del pie en el período neonatal, asociada a rasgos fenotípicos y talla baja, constituye una alta sospecha diagnóstica de síndrome de Turner. Sin embargo, el bajo número de individuos incluidos en nuestra serie hace pensar que en muchos casos la presencia de estas alteraciones no se consideró criterio para remitir a los pacientes para estudio citogenético.

### **9) Convulsiones**

Algunas anomalías cromosómicas se han visto asociadas con epilepsia, las convulsiones están presentes en más de la mitad de los pacientes con delección del brazo corto del cromosoma 4, en el 85-95% de los pacientes con síndrome de Angelman, en el 25-30% de los pacientes con trisomías 13, 18 y 22, en el 25% de los pacientes con síndrome de X frágil, en el 5-10% de los pacientes con síndrome de Down y en otras muchas cromosomopatías.<sup>298,299, 300</sup>

En nuestra serie, en pacientes con crisis convulsivas observamos una frecuencia de alteraciones en el cariotipo de 8,33% (6/72). El único estudio que hemos encontrado en el que se analice la frecuencia de alteraciones cromosómicas en individuos con convulsiones es el de Sidenvall et al.<sup>301</sup>; estos autores estudiaron niños con espasmos infantiles, entre los que

encontraron una frecuencia de anomalías cromosómicas de 8,77% (5/57). Nosotros, en niños con crisis convulsivas observamos una frecuencia de alteraciones citogenéticas de 6,25% (4/64).

Sindevall et al.<sup>301</sup> no describen el tipo de anomalías cromosómicas observadas en sus pacientes. Nosotros encontramos alteraciones diversas, pero en 2 de los 6 casos, ambos de sexo femenino, existía un cromosoma 15 derivado de una translocación (15;Y) con presencia de heterocromatina distal del brazo largo del cromosoma Y translocada al brazo corto del cromosoma 15. No sabemos si es una asociación casual, o si la presencia de esta alteración cromosómica en mujeres podría estar relacionada con la aparición de crisis convulsivas. No hemos encontrado ningún caso publicado de este tipo de cromosomopatía en pacientes con epilepsia.

#### **10) Azoospermia y oligospermia**

Las cromosomopatías, principalmente las que afectan a los cromosomas sexuales, pero también las autosomopatías, pueden alterar el proceso de espermatogénesis.

En pacientes con azoospermia, Matsuda et al.<sup>280</sup> encontraron anomalías cromosómicas en el 7,86% (7/89) de los casos y Gündüz et al.<sup>279</sup> en el 34,15% (14/41). Nosotros observamos una frecuencia similar a la de Gündüz et al.<sup>279</sup>, entre 245 varones con azoospermia, encontramos alteraciones en el cariotipo en 77 (31,42%).

En nuestra serie existía una frecuencia más baja de cromosomopatías en individuos (n=136) con azoospermia aislada (14,44%) que entre los pacientes (n=109) que presentaban otras alteraciones asociadas (51,37%). Ni Matsuda et al.<sup>280</sup> ni Gündüz et al.<sup>279</sup> especificaron en sus publicaciones el número de pacientes que presentaban otras anomalías asociadas a la azoospermia.

En varones con oligospermia las anomalías cromosómicas son menos frecuentes que entre los azoospermicos. Matsuda et al.<sup>280</sup> hallaron alteraciones en el cariotipo en el 3,53% (6/170) de los pacientes con oligospermia estudiados, Gündüz et al.<sup>279</sup> en el 3,28% (2/61) y nosotros en el 6,45% (4/62).

En individuos con azoospermia, las cromosomopatías vistas con más frecuencia son las que involucran a los cromosomas sexuales, que estuvieron presentes en 5 de los 7 (71,43%) pacientes con alteraciones en el cariotipo diagnosticados por Matsuda et al.<sup>280</sup>, en 13 de los 14 (92,86%) de la serie de Gündüz et al.<sup>279</sup> y 73 de los 77 (94,80%) de la nuestra. La alteración más habitual fue el síndrome de Klinefelter, que se encontró en 3 de los 7 casos (42,86%) de alteraciones citogenéticas encontradas por Matsuda et al.<sup>280</sup>, en 8 de los 14 (57,14%) de Gündüz

et al.<sup>279</sup> y en 68 de los 77 (88,31%) de nuestro estudio. Los reordenamientos cromosómicos balanceados de los cromosomas autosómicos pueden interferir en el proceso de espermatogénesis y conducir a azoospermia; se observaron en 2 de los 7 (28,57%) pacientes con cariotipo patológico diagnosticados por Matsuda et al.<sup>280</sup>, en ninguno de los 14 de la serie de Gündüz et al.<sup>279</sup> y en 4 de los 77 (5,19%) de la nuestra.

En varones con oligospermia, la frecuencia vista de alteraciones en cromosomas sexuales fue menor y la de reordenamientos balanceados de cromosomas autosómicos mayor. Entre los 6 pacientes con alteraciones en el cariotipo de la serie de Matsuda et al.<sup>280</sup>, 2 tenían un cariotipo 47,XYY y 4 presentaban translocaciones balanceadas de cromosomas autosómicos (2 robertsonianas y 2 no robertsonianas). De los 2 de la serie de Gündüz et al.<sup>279</sup>, uno presentaba un síndrome de Klinefelter en mosaico y el otro una translocación no robertsoniana de cromosomas autosómicos. Y entre los 4 de nuestro estudio, en 2 casos existía síndrome de Klinefelter y en los otros dos translocaciones robertsonianas.

Varios autores, entre pacientes con azoospermia y con oligospermia severa, han encontrado microdeleciones en Yq11 en un 3-30% de los casos. En el intervalo 6 de esta región cromosómica (Yq11.23) deben existir uno o más genes que estén implicados en la espermatogénesis, a este locus se le ha denominado AZF (*azoospermia factor*). Un gen candidato llamado DAZ, que está localizado en esta región, se ha visto que está delecionado en alrededor del 13% de los varones con azoospermia no obstructiva.<sup>276,302</sup> Sin embargo, estas microdeleciones son raramente visibles por las técnicas convencionales y requieren técnicas moleculares que no están disponibles en la mayoría de los laboratorios de citogenética. Por tanto, la frecuencia de alteraciones cromosómicas entre pacientes con azoospermia u oligospermia, si se hubieran podido incluir estos estudios en las series revisadas, sería probablemente mayor.

### **11) Abortos de repetición**

Las personas portadoras de anomalías cromosómicas están en riesgo de embarazos con fetos afectados de cromosomopatías, muchos de los cuales acaban en abortos espontáneos.

Estudiando parejas con dos o más abortos espontáneos, distintos autores encuentran frecuencias similares de cromosomopatías. Fryns et al.<sup>303</sup>, observaron alteraciones cromosómicas en el 5,34% (93/1743) de las parejas con abortos recurrentes que estudiaron y Makino et al.<sup>304</sup> en el 5,01% (32/639) de las parejas estudiadas. Nosotros, estudiando 583 parejas con abortos de repetición, encontramos anomalías cromosómicas en el 6,52% de ellas.

Las cromosomopatías más habituales en parejas con abortos de repetición son los reordenamientos cromosómicos balanceados, entre ellos los más frecuentes son las translocaciones recíprocas no robertsonianas (66,67% en la serie de Fryns et al.<sup>303</sup>; 59,37% en la de Makino et al.<sup>304</sup> y 44,73% en la nuestra), seguidas de las translocaciones robertsonianas (9,68%; 28,12%; 18,42% en cada una de las tres series respectivamente) y de las inversiones (10,75%; 3,12% y 10,53%). Otras alteraciones como cromosomas marcadores o aneuploidías de cromosomas sexuales en mosaico se vieron con menor frecuencia. La detección de personas portadoras de reordenamientos cromosómicos balanceados es importante por el riesgo aumentado que tienen de descendencia afecta de alteraciones no balanceadas que se asocian a anomalías congénitas.

### **III- MOSAICISMOS CON BAJO NIVEL DE LÍNEA PATOLÓGICA**

EL **TERCER OBJETIVO** de esta tesis es estudiar la significación clínica de los mosaicismos de bajo grado.

En un estudio citogenético es difícil establecer el significado de la presencia de una o dos células con una alteración cromosómica si en el resto de las células analizadas no existen anomalías. Puede representar un verdadero mosaico, pero también puede ser un pseudomosaicismo producido por una alteración cromosómica que se ha generado en las divisiones celulares que tienen lugar durante el cultivo. No existen criterios claros que permitan diferenciar una anomalía de cultivo de un mosaicismo verdadero con una línea patológica en porcentaje bajo. Puede servir de ayuda repetir el cultivo analizando un gran número de células y, si es posible, hacer cultivo de otro tejido. Con las técnicas citogenéticas convencionales analizar un cuantioso número células es sumamente laborioso y, por ello, en la mayoría de los casos no puede llevarse a cabo; actualmente, las técnicas de FISH permiten este análisis con un esfuerzo menor, siendo muy útiles en estos casos. No siempre pueden hacerse nuevos cultivos; además, aunque en ellos vuelva a observarse un mosaicismo en porcentaje bajo, la valoración de la significación clínica del mismo es controvertida.

Se sabe que en los cultivos de sangre periférica de pacientes con anomalías cromosómicas en mosaico el porcentaje de células con la línea o líneas patológicas puede variar con el tiempo. Gravholt et al.<sup>305</sup> hicieron un seguimiento de 32 casos de mosaicismo diagnosticado al nacimiento. En 24 de los casos, con el tiempo, se vio una disminución en el porcentaje de la línea celular patológica (en 5 la disminución condujo a cifras menores del 10% y en uno la línea patológica desapareció), mientras que en 8 casos aumentó. Por tanto, en la mayoría de los pacientes, con la edad, se produce una reducción progresiva del número de células con cariotipo patológico en cultivos de sangre periférica. En el síndrome de Down se ha visto que al aumentar la edad en algunos pacientes aparece un mosaicismo de bajo nivel de células con dos cromosomas 21.<sup>306</sup>

Los mosaicismos de bajo nivel en sangre periférica, en algunos casos, podrían originarse por errores en las divisiones celulares de los linfocitos *in vivo*, sin que ello signifique que la anomalía cromosómica exista en otros tejidos. Así, se ha visto que en los cultivos de sangre

periférica la probabilidad de encontrar células con monosomía del cromosoma X aumenta con la edad. Esto no ocurre con los cromosomas autosómicos.<sup>307,308</sup>

Los mosaicos de bajo grado con frecuencia quedan sin diagnosticar ya que, debido a su presencia en porcentaje bajo, puede no encontrarse entre las células analizadas ninguna con la anomalía cromosómica. En ocasiones, mosaicos no detectados en el estudio citogenético convencional han sido diagnosticados mediante FISH u otras técnicas moleculares.

Se discute la significación de estos mosaicismos tanto en la génesis de anomalías fenotípicas como en las alteraciones en la fertilidad y en el riesgo de descendencia con anomalías cromosómicas.

En nuestro estudio, la mayor parte de los mosaicismos de bajo grado se encontraron antes de que estuviesen disponibles las técnicas de FISH; por ello, en la mayoría de los casos no se pudo llevar a cabo el análisis de un gran número de células. Para no incluir en el estudio muchos casos que podrían ser debidos a anomalías de cultivo, consideramos mosaicismo de bajo grado cuando aparecían al menos dos células con la misma anomalía cromosómica o con anomalías cromosómicas relacionadas y la línea(s) patológica estaba en porcentaje inferior al 10%. Teniendo en cuenta este criterio, los casos que encontramos de mosaicismo de bajo grado fueron de aneuploidías de cromosomas sexuales. En algunos pacientes observamos alteraciones en cromosomas autosómicos, pero que estaban presentes en una única célula de entre 25-50 analizadas y, por tanto, no cumplían los criterios que establecimos para su inclusión en este estudio.

## **A- Alteraciones fenotípicas**

La repercusión clínica de las anomalías en mosaico depende del número de células que presenten la cromosomopatía. Pero el grado de mosaicismo en el tejido analizado no siempre representa el porcentaje de mosaicismo que existe en otros tejidos; en éstos puede existir un número mayor de células con la anomalía cromosómica que sea responsable de la aparición de alteraciones fenotípicas. Así, English et al.<sup>94</sup>, en una paciente con diversas anomalías congénitas, encontraron un cariotipo en sangre periférica normal; el estudio citogenético de fibroblastos procedentes de dos biopsias de piel mostró una trisomía 12 en mosaico en el 9% y 13% de las células; en un posterior estudio minucioso en linfocitos de sangre periférica se encontraron dos células con trisomía 12 entre 500 metafases analizadas.

Nosotros, entre 4920 pacientes con diversas alteraciones fenotípicas y cariotipo sin otras alteraciones, encontramos 19 casos (0,38%) de mosaicismo de bajo grado. No existiendo una

diferencia significativa con la frecuencia encontrada entre 877 individuos controles (0,22%). Sin embargo, entre nuestros pacientes todas las alteraciones encontradas fueron aneuploidías de los cromosomas sexuales, que se asocian con menor frecuencia a alteraciones fenotípicas que las alteraciones en cromosomas autosómicos. Por tanto, un estudio con mosaicismos de bajo grado de anomalías de cromosomas autosómicos podría arrojar conclusiones diferentes.

Las anomalías estructurales de los cromosomas autosómicos se ven raramente en forma de mosaico, por ello la presencia en el análisis citogenético de una célula aislada con una alteración estructural habitualmente es considerada como una anomalía de cultivo. Sin embargo, se han publicado algunos casos en los que la observación de una única célula con una anomalía estructural fue clínicamente significativa. Así, Vockley et al.<sup>309</sup> en un diagnóstico prenatal encontraron una célula con una delección en el brazo corto del cromosoma 4 (4p-), fue considerada un pseudomosaicismo y el embarazo continuó, al nacimiento se encontró un niño con diversas alteraciones fenotípicas cuyo cariotipo en sangre periférica mostró un 5% de células con el cromosoma 4p-.

## **B- Alteraciones en la fertilidad (esterilidad y abortos de repetición)**

Diversos autores han observado una frecuencia aumentada de mosaicismos de bajo grado en pacientes con trastornos de la fertilidad.

Devi et al.<sup>307</sup> entre 15 mujeres con menopausia precoz de causa desconocida, cuyo cariotipo realizado con las técnicas citogenéticas convencionales era femenino normal, mediante técnica de FISH en núcleos en interfase utilizando la sonda DXZ1 (para la región pericentromérica del cromosoma X), encontraron diferencias significativas en la media de células con una sola señal entre las pacientes ( $\text{media} \pm 1\text{DS} = 5,50\% \pm 1,73$ ) y en el grupo control ( $2,42\% \pm 1,06$ ). Nosotros, en una paciente con menopausia precoz, encontramos una línea celular 45,X y otra 47,XXX que abarcaban el 6% y el 3% de las células respectivamente, en el 91% de las células el cariotipo era femenino normal.

En parejas con abortos de repetición varios estudios han encontrado una mayor incidencia de mosaicos de bajo grado involucrando principalmente a los cromosomas sexuales. Toncheva et al.<sup>310</sup>, entre 16 pacientes que habían sido estudiados por haber sufrido 3 o más fallos de reproducción asistida, encontraron 6 casos (37,5%) de anomalías en los cromosomas sexuales en



mosaicos de bajo grado (1-3,6%). Satge et al.<sup>311</sup> publicaron un caso de una mujer con abortos de repetición y rasgos fenotípicos en la que en el estudio citogenético en linfocitos de sangre periférica se encontraron 4 células, de entre 50 analizadas, con trisomía 18. En dos cultivos distintos de fibroblastos de piel se encontró una célula con trisomía 18 de entre 100 analizadas. Nosotros, entre 1128 individuos (564 parejas) estudiados por abortos de repetición, sin otras alteraciones cromosómicas, encontramos mosaicismos de bajo grado (todos ellos involucraban a los cromosomas sexuales) en 19 (1,68%) existiendo una diferencia significativa con la frecuencia encontrada en los controles (0,22%).

La causa cromosómica más frecuente de esterilidad son las anomalías en los cromosomas sexuales. En muchas ocasiones existen otras alteraciones que hacen que se diagnostique la cromosomopatía antes de la aparición de la esterilidad. Cuando la anomalía se encuentra en mosaico la repercusión fenotípica suele ser menor, pudiendo ser la esterilidad el motivo del estudio citogenético. En personas estudiadas por esterilidad, y con cariotipo sin más alteraciones, varios autores han encontrado mosaicismos de bajo grado de aneuploidías de los cromosomas sexuales. Así, Peschaka et al.<sup>312</sup> los observaron en el 4,56% de entre 1358 pacientes (679 parejas) estudiados y Mau et al.<sup>275</sup> en el 2% de entre 264 personas (132 parejas). Nosotros, entre 313 pacientes estudiados por esterilidad con cariotipo sin otras alteraciones, encontramos mosaicismos de bajo grado de aneuploidías de cromosomas sexuales en el 1,60% de los casos (5/313) que supuso una diferencia significativa con la frecuencia observada en los controles (0,22%). Entre los 87 pacientes con esterilidad de causa desconocida existía mosaicismo de bajo grado en 1 (1,15%) las diferencias no fueron significativas con respecto a el grupo control. Y entre 168 pacientes con azoospermia en 4 (2,38%) la diferencia con los controles fue significativa. En ninguno de los 58 pacientes con oligospermia encontramos mosaicismo de bajo nivel.

Todos estos estudios parecen indicar que las personas en cuyo cariotipo existan estas aneuploidías de bajo grado tienen un riesgo aumentado de trastornos de fertilidad. Serán necesarios otros ensayos que corroboren estos resultados para establecer con seguridad la implicación de estos mosaicismos en la esterilidad.

### **C- Anomalías cromosómicas en la descendencia.**

Los estudios realizados por algunos autores sugieren que la existencia en un individuo de una línea celular de bajo grado con anomalías cromosómicas podría suponer un aumento en el riesgo de descendencia afecta de cromosomopatías. Así, Uchida et al.<sup>313</sup>, en el estudio citogenético de los padres de 374 pacientes con síndrome de Down, observaron en uno de los progenitores al menos 2 células (de 100-200 analizadas) con trisomía 21 en el 2,7% de las familias y al menos una célula con trisomía 21 en el 4,3%. En 2 de las 3 familias en las que había más de un hijo afecto de síndrome de Down se encontró trisomía 21 en mosaico en el cariotipo materno. También se han visto mosaicismos de bajo grado en padres de hijos afectados de síndrome de Down por translocación entre dos cromosomas 21; Croci et al.<sup>314</sup> revisan 3 series previamente publicadas que reúnen en total 11 familias en las que hubo recurrencia de hijos afectados con síndrome de Down con translocación robertsoniana entre dos cromosomas 21, entre ellas se encontró esta anomalía cromosómica en mosaico de bajo grado en alguno de los progenitores en 6 familias (54,54%).

Además, se han publicado casos de padres portadores de mosaicismos de bajo nivel en otras trisomías. Así, Beratis et al.<sup>315</sup> describieron dos pacientes con trisomía 18 en los cuales en uno de los progenitores existía un bajo nivel de trisomía 18; en uno de los casos, en el padre se observó un 7,14% (5/70) de células trisómicas en el cultivo de sangre periférica y un 4% (4/100) en el de fibroblastos de piel; en el otro caso, en la madre un 2% (2/100) en sangre periférica y ninguna célula patológica de entre 75 analizadas del cultivo de piel.

La existencia de un mosaicismo de bajo grado de una anomalía estructural también se ha publicado asociada a riesgo de cromosomopatía en la descendencia; Sciorra et al.<sup>316</sup> publicaron un caso de un niño con un cromosoma 7 derivado de una t(7;14), esta translocación estaba presente en su padre en el 1% (1/100) de las células del cultivo de sangre periférica y en ninguna de las 100 células analizadas del cultivo de fibroblastos cutáneos.

Incluso niveles muy bajos de mosaicismo pueden suponer un riesgo de descendencia con anomalías cromosómicas. Así, en una familia estudiada por Croci et al.<sup>314</sup> con un hijo afecto de síndrome de Down con translocación (21;21), en el estudio citogenético de la madre en tres cultivos distintos de sangre periférica se encontró esta anomalía cromosómica en el 0,8% (4/501), 0% (0/566) y 0,4% (4/998) de las células y en un cultivo de fibroblastos cutáneos en el 0,5% (3/574). Por tanto, a pesar del nivel tan bajo de mosaicismo (<1%), se trata de un verdadero

mosaico, ya que estaba presente en tres cultivos diferentes y se asoció a descendencia afecta de síndrome de Down.

Entre nuestros pacientes también observamos mosaicismos de bajo grado en progenitores de pacientes con anomalías cromosómicas. Así, en una madre de un individuo afecto de síndrome de Down encontramos una única célula con trisomía 21 de entre 30 analizadas. En una madre de una paciente con síndrome de Turner (45,X) observamos un 4% de células 45,X y un 2% de células 47,XXX. En un caso en el que en un diagnóstico prenatal en líquido amniótico se encontró una línea celular 47,XXX, que abarcaba el 5% de las células, en la madre se encontró esta línea celular también en un 5% de las células. En el padre de un niño con un cromosoma marcador encontramos este cromosoma marcador en el 5% de las células analizadas. Y, por último, observamos un 3% de células 47,XYY en el padre de un niño con un cromosoma isodicéntrico Y.

Todos estos estudios parecen indicar que en personas portadoras de mosaicismos de bajo grado existe un riesgo aumentado de hijos afectados de cromosomopatías, pero la presencia de estos mosaicismos también en individuos sanos con descendencia sin alteraciones no permite extraer conclusiones definitivas. En nuestra serie encontramos aneuploidias de bajo grado de los cromosomas sexuales tanto en padres de pacientes con alteraciones en cromosomas sexuales como en padres de hijos con otras anomalías cromosómicas, pero también las observamos en los controles. Estaban presentes en el 1,93% de los padres (5/258) de hijos afectados de anomalías cromosómicas *de novo*, que es una frecuencia significativamente más alta a la encontrada en los controles (0,22%), lo que podría indicar un riesgo aumentado de descendencia afecta de cromosomopatías en personas portadoras de estos mosaicismos de bajo grado.

De existir, la cuantía del riesgo no se conoce, debido a que estos mosaicismos frecuentemente pasan desapercibidos en el análisis citogenético de rutina, por lo que muchos casos quedan sin diagnosticar. La presencia en un cultivo en sangre periférica de un mosaicismo de bajo grado puede concurrir con la existencia de un mayor porcentaje de células con la anomalía cromosómica en otros tejidos, si se trata de las células germinales el riesgo de hijos afectados de cromosomopatías puede ser alto. Así, en una de las familias con hijos afectados con síndrome de Down estudiadas por Uchida et al.<sup>313</sup>, en la que en la madre existía un bajo nivel de trisomía 21 (7,4%) en linfocitos de sangre periférica, se realizaron otros cultivos con 2 biopsias de piel y biopsias de ambos ovarios; en un cultivo de piel se encontró un 2% (2/100) de células

con trisomía 21 y en el otro ninguna célula trisómica; sin embargo, en el ovario derecho existía trisomía 21 en el 84% (22/100) de las células y en el izquierdo en el 22% (22/100).

Las anomalías cromosómicas en mosaico se originan como consecuencia de errores postcigóticos, por tanto la existencia de un mosaicismo en las células germinales supondría un riesgo de hijos con la anomalía cromosómica en línea única. Sin embargo, se han publicado algunos casos de mosaicismo familiar, en los que existe la anomalía en mosaico en dos generaciones distintas. Para explicarlo se ha sugerido la existencia de mutaciones en genes que determinasen una predisposición para la aparición de mosaicismos.<sup>317</sup> Nosotros encontramos una familia en la que en la madre y en una hija existía un cariotipo en mosaico 46,XX/45,X/47,XXX y un hijo estaba afecto de síndrome de Klinefelter.

#### **D- Mosaicismos ocultos en pacientes con síndrome de Turner**

El diagnóstico de mosaicismo de bajo grado y mosaicos ocultos tiene especial interés en el síndrome de Turner. En el estudio citogenético de estas pacientes es frecuente observar mosaicismos. La frecuencia con la que los distintos autores encuentran mosaicos en mujeres con síndrome de Turner varía en función de la cantidad de células analizadas y del número de tejidos estudiados. El análisis de un sólo tejido revela mosaicismo en aproximadamente el 30% de los casos, pero si se estudian dos tejidos distintos el porcentaje de pacientes con mosaicismo aumenta al 65%.<sup>122</sup>

El 99% de las concepciones 45,X terminan en abortos espontáneos, la alta mortalidad del cariotipo 45,X hace pensar en que es necesario un mosaicismo para la supervivencia. Algunos autores postulan que quizá todas las pacientes con síndrome de Turner vivas con cariotipo 45,X son mosaicos, pero que en algunos casos el porcentaje de una de las líneas celulares sería tan bajo que pasaría desapercibida para las técnicas convencionales.<sup>123</sup>

Recientemente, varios autores han llamado la atención sobre la importancia de la detección, con técnicas moleculares, de mosaicismos ocultos en pacientes con síndrome de Turner. Ya que se piensa que la presencia de una línea 46,XX oculta en pacientes con cariotipo 45,X conduce a un fenotipo menos severo,<sup>118</sup> y que la existencia de líneas celulares con material genético de cromosoma Y está relacionada con un riesgo alto de desarrollar un gonadoblastoma.

Diferentes autores han hallado frecuencias distintas de mosaicos ocultos en pacientes con síndrome de Turner. Entre mujeres cuyo cariotipo con las técnicas citogenéticas convencionales

era 45,X Larsen et al.<sup>126</sup>, utilizando PCR, encontraron mosaicos ocultos de células con dos cromosomas X en 6 de entre 40 pacientes estudiadas; Fernández et al.<sup>123</sup>, utilizando PCR y FISH, en 8 de entre 10 mujeres; y Yorifugi et al.<sup>127</sup> en 2 de entre 18 pacientes. En cuanto a los mosaicismos ocultos con secuencias de cromosoma Y, Patsalis et al.<sup>125</sup>, utilizando PCR, detectaron secuencias ocultas de cromosoma Y en el 24% de las pacientes estudiadas (12/50). Pero otros autores no obtienen estos resultados; así, Larsen et al.<sup>126</sup>, mediante PCR, no encontraron secuencias de Y en ninguno de las 40 pacientes con síndrome de Turner estudiadas; ni Yorifugi et al.<sup>127</sup>, también con PCR, entre 18 pacientes con cariotipo 45,X; tampoco Fernández et al.<sup>123</sup>, utilizando FISH y PCR, encontraron secuencias de cromosoma Y entre 25 pacientes con síndrome de Turner.

Nosotros, mediante FISH, detectamos mosaicos ocultos en 2 de entre 8 pacientes con síndrome de Turner estudiadas, en una paciente encontramos una célula 46,XX y en la otra una célula 46,XY.

## **IV- HETEROMORFISMOS CROMOSÓMICOS**

**El 4º OBJETIVO de esta tesis es estudiar la frecuencia de los heteromorfismos cromosómicos y analizar si existe relación entre ellos y las diversas alteraciones fenotípicas, los abortos de repetición o la existencia de descendencia afecta con anomalías cromosómicas**

No se conoce bien el significado de los heteromorfismos cromosómicos, son variaciones individuales en el tamaño de la heterocromatina que se considera que es genéticamente inactiva debido a que su ADN no contiene genes. Los heteromorfismos de los cromosomas 1, 9, 16 e Y se hallan ampliamente distribuidos en la población y se piensa que no tienen repercusión fenotípica, ya que pueden estar presentes tanto en individuos sanos como en pacientes con alteraciones. Sin embargo, algunos autores han encontrado relación entre la existencia de heteromorfismos y diversas alteraciones clínicas. Pero el número de estudios realizados sobre la significación de heteromorfismos cromosómicos es muy escaso, por lo que los resultados de nuestro estudio, en muchos casos, no han podido ser contrastados con los obtenidos por otros autores.

### **A- Neoplasias**

En varias publicaciones se ha informado de una mayor frecuencia de algunos heteromorfismos en sujetos con determinadas neoplasias, fundamentalmente en enfermedades malignas hematológicas,<sup>9</sup> tanto en estados preleucémicos,<sup>10</sup> como en leucemias agudas<sup>11,12,13</sup> en leucemias crónicas,<sup>14,15,16</sup> linfoma no Hodgkin<sup>17</sup> y en mieloma.<sup>18</sup> También se ha encontrado mayor frecuencia de heteromorfismo cromosómicos en otras neoplasias como cánceres orales,<sup>19</sup> de ovario,<sup>20</sup> de mama,<sup>20</sup> próstata,<sup>21</sup> tumores colorectales,<sup>22</sup> etc. Otros estudios no han encontrado asociación entre la incidencia de heteromorfismos cromosómicos y diversas neoplasias como cáncer de pulmón,<sup>23</sup> linfomas no Hodgkin,<sup>25</sup> y en cáncer de ovario y mama.<sup>25</sup> También se ha visto que la cuantificación de regiones Ag-Nor en células en interfase es un factor pronóstico en varios tipos de cáncer.<sup>26</sup>

Nosotros, en pacientes con neoplasias, encontramos una frecuencia de heteromorfismos cromosómicos de 23,10% (58/251), que es significativamente superior a la encontrada en controles (10,83%). En nuestra serie, 71 pacientes estaban afectados de tumores testiculares, entre ellos en el 32,39% (23/71) se observaron heteromorfismos (está frecuencia es significativamente

mayor a la observada entre individuos controles). En el resto de pacientes existía una gran variedad de neoplasias, por lo que los grupos de pacientes por tipos de neoplasias fueron pequeños no pudiéndose, por tanto, analizar la frecuencia de heteromorfismos en cada uno de ellos. Nuestros resultados, y los de otras series, parecen indicar que podría existir una relación entre la presencia de heteromorfismos y el riesgo de neoplasias. Pero otras publicaciones no corroboran estos resultados. Por tanto, serán necesarios más estudios que analicen la significación de los heteromorfismos cromosómicos en la génesis de los tumores.

## **B- Alteraciones fenotípicas**

Diversos autores han encontrado relación entre heteromorfismos cromosómicos y algunas patologías. Así, Kosower et al.<sup>318</sup> encontraron tamaños significativamente menores de la región de heterocromatina centromérica del cromosoma 1 en pacientes con esquizofrenia. Buretic-Tomljanovic et al.<sup>319</sup> observaron una cantidad aumentada de heterocromatina centromérica del cromosoma 16 en personas con hijos nacidos muertos con y sin malformaciones. Y Matsuda et al.<sup>280</sup> encuentran una frecuencia significativamente aumentada de inversión pericéntrica del cromosoma 9 en pacientes con azoospermia, pero no en pacientes con oligospermia.

No hemos encontrado ningún trabajo que analice la frecuencia de heteromorfismos en individuos con otras alteraciones fenotípicas. Nosotros estudiamos la frecuencia de heteromorfismos en pacientes sin cromosopatías y con alteraciones fenotípicas, encontrándola significativamente aumentada, con respecto a la observada en los controles, en pacientes con retraso mental, rasgos fenotípicos, cardiopatía, anomalías renales, anomalías esqueléticas, anomalías en genitales femeninos, azoospermia, anomalías en genitales masculinos (distintas de criptorquidia e hipospadias/epispadias) y ginecomastia. No observamos una frecuencia significativamente aumentada de heteromorfismos cromosómicos en pacientes con las siguientes alteraciones: labio leporino y/o paladar hendido, alteraciones en sistema nervioso central, anomalías digestivas, talla baja, amenorrea, criptorquidia, hipospadias/epispadias y oligospermia. Estos resultados podrían indicar que la presencia de heteromorfismos cromosómicos podrían suponer un riesgo aumentado de aparición de algunas alteraciones fenotípicas. Sin embargo, la interpretación de estos resultados es difícil debido a la ausencia de otros estudios que los apoyen.

No hemos estudiado la significación de cada uno de los diferentes tipos de heteromorfismos debido a que las bajas frecuencias de cada uno de ellos en los distintos grupos de alteraciones fenotípicas no permitía extraer conclusiones, salvo para el caso del Yqh+. En

varones con azoospermia encontramos un aumento significativo en la frecuencia de Yqh+ con respecto a la frecuencia encontrada en controles. También encontramos una frecuencia significativamente aumentada de Yqh+ en varones con talla baja y en pacientes con alteraciones en genitales masculinos (distintas de criptorquidia e hipospadias/epispadias). El aumento de la heterocromatina distal del cromosoma Y podría estar implicada en la génesis de estas anomalías quizá interfiriendo la acción de genes que están situados en el cromosoma Y que intervienen en la espermatogénesis, en el crecimiento y en la formación de los genitales masculinos. No hemos encontrado publicaciones que analicen la frecuencia de heteromorfismos del cromosoma Y en estas patologías. Por tanto, nuestros datos no pueden ser corroborados por otros estudios.

### **C- Abortos de repetición**

Genest y Genest.<sup>320</sup> observaron un incremento en la frecuencia de abortos de repetición en familias con Yqh+. Pero otros autores no han encontrado aumento en la frecuencia de heteromorfismos en pacientes con abortos recurrentes. Del Porto et al.<sup>321</sup> no hallaron diferencias significativas en la frecuencia de heteromorfismos entre parejas con abortos de repetición y un grupo control, salvo para el caso de la inversión pericéntrica del cromosoma 9 que parecía estar marginalmente relacionada con abortos recurrentes. Otros autores tampoco han observado un aumento en la frecuencia de heteromorfismos en parejas con pérdidas fetales repetidas.<sup>322</sup>

Nosotros realizamos estudio citogenético a 1128 individuos (564 parejas) por abortos de repetición, entre ellos encontramos heteromorfismos cromosómicos en el 17,91% de los casos. Esta frecuencia fue significativamente más alta que la observada en controles (11,6%). Nuestros resultados parecen indicar que podría existir un aumento de riesgo de sufrir abortos por la presencia de heteromorfismos, pero otras series no corroboran estos datos.

Romain et al.<sup>6</sup> observaron un raro aumento de la región centromérica del cromosoma 20, en un varón cuya pareja tenía historia de 3 abortos espontáneos. Nosotros también encontramos abortos recurrentes en individuos con heteromorfismos raros; entre 14 casos diagnosticados, en 4 (28,57%) existía historia de abortos de repetición; en dos pacientes observamos un cromosoma 17h+, en otro un 19h+ y en el otro un 20h+. El número de casos es pequeño para extraer conclusiones, pero parecen indicar que estos heteromorfismos raros podrían estar implicados en las pérdidas reproductivas repetidas.



## **D- Riesgo de alteraciones cromosómicas en la descendencia**

Algunos trabajos antiguos encontraron una mayor frecuencia de variantes en las regiones NOR de los cromosomas acrocéntricos en padres de pacientes con síndrome de Down, pero estudios posteriores no lo han confirmado, observando similares incidencias de heteromorfismos de las regiones NOR en padres de individuos con síndromes de Down que en controles.<sup>323,324</sup> Nosotros, entre padres de pacientes con síndrome de Down, encontramos una frecuencia de heteromorfismos de 24,09% (19/79), que es significativamente superior a la encontrada en controles. También encontramos una frecuencia significativamente aumentada (17,27%) de heteromorfismo entre individuos estudiados por tener familiares afectados de anomalías cromosómicas. Esto contrasta con el hecho de no haber observado una frecuencia incrementada de heteromorfismos en pacientes con cromosomopatías, que podría explicarse por una segregación preferencial del cromosoma de la pareja que no porta el heteromorfismo en las personas con anomalías cromosómicas. No hemos encontrado en la literatura otras series publicadas que estudien la frecuencia de heteromorfismos cromosómicos en familiares de pacientes con cromosomopatías.

La interpretación de los resultados sobre heteromorfismos cromosómicos obtenidos en nuestra serie debe ser cautelosa, no sólo por la falta de otros estudios que corroboren nuestros datos, sino también por el hecho de que la valoración de la presencia de un heteromorfismo es subjetiva. Existe una variación continua en el tamaño de las regiones heterocromáticas, cuando el aumento o disminución de tamaño con respecto al encontrado en la mayoría de los individuos es muy grande la presencia del heteromorfismo es clara, pero los aumentos y disminuciones menores pueden ser valorados en unos casos como heteromorfismos y en otros como tamaño normal. Se obtendrían resultados más fiables si en la fotografía de cada uno de los cariotipos todas las regiones heterocromáticas hubieran sido medidas y establecidas las longitudes relativas de cada región que se considera como heteromorfismo. Esto no es posible realizarlo en nuestro trabajo, ya que se trata de un estudio retrospectivo que incluye un gran número de casos (9089). De modo que los datos de nuestra serie son los extraídos del estudio citogenético de rutina de cada paciente, en el cual se determina la presencia de un heteromorfismo con criterios subjetivos de valoración. Sin embargo, a pesar de este componente subjetivo la fiabilidad de los resultados puede ser alta, puesto que la mayor parte de los estudios citogenéticos fueron realizados por la misma persona, de modo que los criterios de valoración en la mayoría de los casos fueron los mismos.

# Conclusiones

**Conclusiones en relación con el 1<sup>er</sup> OBJETIVO: Estudio de la frecuencia de anomalías cromosómicas:**

En pacientes con alteraciones fenotípicas observamos una frecuencia de cromosomopatías de 11,87%; en individuos estudiados por tener algún familiar afecto de anomalías cromosómicas, de 19,9%; en parejas con abortos de repetición de, 6,52% y en individuos sanos, de 0,57%.

**Conclusiones en relación con el 2<sup>o</sup> OBJETIVO: Frecuencia de cromosomopatías en pacientes con anomalías congénitas y en otros desórdenes:**

1- La alteración clínica que con más frecuencia encontramos asociada a anomalías cromosómicas fue el edema del dorso del pie al nacimiento en mujeres: el 53,84% de las pacientes estudiadas tenían cariotipo patológico (de síndrome de Turner, salvo en un caso). Estos datos parecen confirmar el hecho de que el edema en el dorso del pie en neonatas constituye una alta sospecha de síndrome de Turner.

2- Entre pacientes con retraso mental observamos cromosomopatías en el 13,82% de los casos. El síndrome de Down fue la principal causa cromosómica de retraso mental. Cuando el retraso mental estaba presente de forma aislada, sin otras anomalías asociadas, sólo el 6,19% de los pacientes presentaban alteraciones citogenéticas.

3- La frecuencia de cromosomopatías en niños con malformaciones congénitas fue de 8,04%.

La malformación congénita en la que con más frecuencia observamos anomalías cromosómicas fue la polidactilia (38,09%), seguida de las cardiopatías (33,04%), las alteraciones digestivas (30,9%), renales (23,52%), esqueléticas (17,92%), pulmonares (16,67%), oculares (16,45%) y del sistema nervioso central (16,42%). En otras malformaciones congénitas existía una frecuencia menor de cromosomopatías.

Las alteraciones cromosómicas fueron menos frecuentes cuando la malformación congénita estaba presente de forma aislada sin otras alteraciones asociadas, bajando a cifras del 6,66% para las cardiopatías; 14,28% para las malformaciones renales; 3,3% para las esqueléticas; 4,65% para las del sistema nervioso central y 0% para las oculares. El número pequeño de pacientes con alteraciones digestivas o pulmonares aisladas no permitió estudiar en ellas la frecuencia de cromosomopatías.

4- La criptorquidia fue la anomalía congénita en la que se observó una menor frecuencia de cromosomopatías (2,94%). Otras alteraciones que se asociaron con baja frecuencia a anomalías citogenéticas fueron las convulsiones (8,33%), las alteraciones cutáneas (7,27%), los hipospadias (7%), los genitales ambiguos (6,98%), la hiperlaxitud articular (5,6%), la macrocefalia (5,45%), la pubertad retrasada (4,67%), los tumores (3,46%) y la pubertad precoz (3,03%).

5- La talla baja la encontramos asociada a cromosomopatía con mayor frecuencia en mujeres (10,04%) que en varones (2,59%).

La ausencia de antecedentes familiares de talla baja supuso un importante aumento en la frecuencia observada de anomalías cromosómicas. Pasando en mujeres de 4,52% (cuando presentaban antecedentes familiares) a 19,46%, (cuando éstos no existían) y en varones de 1,58% a 8,33% respectivamente.

En mujeres, observamos un importante incremento en la frecuencia de cromosomopatías cuando existían otras alteraciones asociadas a la talla baja: pasando de 4,36% en las mujeres con talla baja aislada a 20,44% en las que tenían otras anomalías asociadas.

6- En los trastornos de la fertilidad jugaron un papel variable las anomalías cromosómicas. Estuvieron presentes en el 31,42% de los varones con azoospermia, en el 6,45% de los que tenían oligospermia, en ninguno de los pacientes estudiados con esterilidad de causa desconocida y en el 6,52% de las parejas con abortos de repetición.

### **Conclusiones en relación con el 3<sup>er</sup> OBJETIVO: Significación clínica de los mosaicismos de bajo grado:**

Observamos una frecuencia significativamente aumentada de mosaicismos de bajo grado en padres de individuos afectos de anomalías cromosómicas (1,93%), en pacientes estudiados por abortos de repetición (1,68%) y en individuos estudiados por esterilidad (1,60%) con respecto a la frecuencia encontrada en el grupo control (0,22%). Estos resultados indican que los mosaicismos de bajo grado pueden suponer un riesgo incrementado de descendencia afecta de anomalías cromosómicas e intervenir en la génesis de trastornos de la fertilidad.

**Conclusiones en relación con el 4° OBJETIVO: Significación clínica de los heteromorfismos cromosómicos:**

Entre individuos sin cromosomopatías y con alteraciones fenotípicas encontramos una frecuencia de heteromorfismos cromosómicos significativamente aumentada, con respecto a la observada en los controles (10,83%), en pacientes con azoospermia (25,59%), con neoplasias (23,10%), ginecomastia (23,08%), anomalías esqueléticas (22,82%), anomalías en genitales masculinos (distintas de criptorquidia e hipospadias/epispadias) (21,70%), anomalías en genitales femeninos (21,69%), cardiopatía (20%), anomalías renales (20%), rasgos fenotípicos (16,53%) y retraso mental (16,17%). También observamos una frecuencia incrementada de heteromorfismos cromosómicos en individuos estudiados por abortos de repetición (17,91%) y en familiares de pacientes afectados de anomalías cromosómicas (17,27%).

Estos resultados parecen indicar que los heteromorfismos cromosómicos pueden jugar un papel tanto en la génesis de algunas alteraciones fenotípicas como en los trastornos de la fertilidad y en el riesgo de descendencia afecta de cromosomopatías. La escasez de estudios al respecto hace que no podamos comparar nuestros datos con otras series. Por tanto, la validación de nuestro resultados está pendiente de otros estudios que los corroboren.

# **Bibliografía**

- <sup>1</sup> Thompson MW, McInnes RR, Willard HF. Citogenética clínica: principios generales y anomalías autosómicas. En: *Genética en Medicina*. 4ª Edición. 1996 Ed: Mason SA. Pag: 191-218.
- <sup>2</sup> Nielsen J, Wohler M. Chromosome abnormalities found among 34910 newborn children: results from a 13-year incidence study in Arhus, Denmark. *Hum Genet* 1991; 87: 81-83.
- <sup>3</sup> Emery AE, Muller RF. Incidencia de las anomalías cromosómicas. En: *Principios de Genética*. Ed: Alahambra Longman 1992; Pag: 158-160.
- <sup>4</sup> Wolstenholme J. An introduction to human chromosomes and their analysis. En: *Human Cytogenetics. A practical approach*. Volume I. Constitutional analysis. Ed: Rooney DE, Czepulkowski BH. 1992. Pag 3-30.
- <sup>5</sup> Fineman RM, Issa B, Weinblatt V. Prenatal diagnosis of a large heteromorphous region in a chromosome 5: implications for genetic counselling. *Am J Med Genet* 1989; 32: 498-499.
- <sup>6</sup> Romain DR, Whyte S, Callen DF, Eyre HJ. A rare heteromorphism of chromosome 20 and reproductive loss. *J Med Genet* 1991; 28: 477-478.
- <sup>7</sup> Jabs EW, Carpenter N. Molecular cytogenetic evidence for amplification of chromosome-specific alphoid sequences at enlarged C-bands on chromosome 6. *Am J Hum Genet* 1988; 43: 69-74.
- <sup>8</sup> Lin MS, Zhang A, Fujimoto A, Wilson MG. A rare 6q11+ heteromorphism: cytogenetic analysis and in situ hybridization. *Hum Hered* 1994; 44: 31-6.
- <sup>9</sup> Adhvaryu SG, Jani KH, Trivedi AH, Dave BJ, Rawal UM. Y chromosome in leukemia patients. A study on the heteromorphous nature of its heterochromatic segment. *Neoplasma* 1989; 36: 343-347.
- <sup>10</sup> Labal de Vinuesa M, Larripa I, Mudry M, Brieux S. Heterochromatic variants and their association with neoplasias II. Preleukemic states. *Cancer Genet Cytogenet* 1985; 14: 31-35.
- <sup>11</sup> Petkovic I, Nakic M, Konja J. Heterochromatic variability in children with acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Genet Cytogenet* 1991; 54: 67-69.
- <sup>12</sup> Tsezou A, Kitsiou S, Kosmidis H, Paidousi K, Katsouyanni K, Sinaniotis C. Constitutive heterochromatin polymorphisms in children with acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Hematol Oncol* 1993; 10: 7-11.
- <sup>13</sup> Petkovic I, Nakic M, Konja J. Heterochromatic variability in children with acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Genet Cytogenet* 1991; 54: 67-69.
- <sup>14</sup> Kristofferson U, Bernheim A, Berger R, Nilsson B, Heim S, Mandahl N, Mitelman F. Constitutional C-band polymorphism in lymphocytes from patients with chronic myeloid leukemia. *Hereditas* 1989; 110: 145-148.
- <sup>15</sup> Adhvaryu SG, Dave BJ, Trivedi AH, Jani KH, Vyas RC. Heteromorphism of C-band positive chromosomal regions in CML patients. *Cancer Genet Cytogenet* 1987; 27: 33-8.
- <sup>16</sup> Sampaio DA, Mattevi MS, Cavalli JJ, Erdtmann B. Densitometric measurements of C bands of chromosomes 1, 9, 16 and Y in leukemic and preleukemic disorders. *Cancer Genet Cytogenet* 1989; 41: 71-78.
- <sup>17</sup> Labal de Vinuesa M, Slavutsky I, Mudry de Pergament M, Larripa I. Heterochromatic variants and their association with neoplasias: V. Non-Hodgkin's lymphomas. *Cancer Genet Cytogenet* 1988; 31: 175-178.
- <sup>18</sup> Ranni NS, Labal de Vinuesa M, Mudry de Pergament M, Slavutsky I, Larripa I. Heterochromatic variants and their association with neoplasias: III. Multiple myeloma. *Cancer Genet Cytogenet* 1987; 28: 101-105.
- <sup>19</sup> Dave BJ, Trivedi AH, Adhvaryu SG. Variations in centromeric heterochromatin among patients with pre-malignant and malignant oral diseases. *Int J Cancer* 1991; 48: 368-369.
- <sup>20</sup> Adhvaryu SG, Rawal UM. C-band heterochromatin variants in individuals with neoplastic disorders: carcinoma of breast and ovary. *Neoplasma* 1991; 38: 379-384.
- <sup>21</sup> Lundgren R, Berger R, Kristofferson U. Constitutive heterochromatin C-band polymorphism in prostatic cancer. *Cancer Genet Cytogenet* 1991; 51: 57-62.
- <sup>22</sup> Labal de Vinuesa M, Mudry de Pergament M, Slavutsky I, Meiss R, Chopita N, Larripa I. Heterochromatic variants and their association with neoplasias: IV. Colon adenomas and carcinomas. *Cancer Genet Cytogenet* 1988; 31: 171-174.
- <sup>23</sup> Kristofferson U, Berger R, Bernheim A, Desatnik P, Heim S, Mandahl N, Olsson H, Mitelman F. No abnormal C-band polymorphism in lung cancer patients. *Hereditas* 1989; 110: 201-202.
- <sup>24</sup> Kristofferson U, Berger R, Bernheim A, Akerman M, Olsson H, Mitelman F. C-band polymorphism in non-Hodgkin lymphomas. *Hereditas* 1985; 103: 85-87.
- <sup>25</sup> Kivi S, Mikelsaar AV. C-band polymorphism in lymphocytes of patients with ovarian or breast adenocarcinoma. *Cancer Genet Cytogenet* 1987; 28: 77-85.
- <sup>26</sup> Pich A, Chiusa L, Margaria E. Prognostic relevance of AgNORs in tumor pathology. *Micron* 2000; 31: 133-141.
- <sup>27</sup> Spinner NB, Eunpu DL, Schmickel RD, Zackai EH, McEldrew D, Bunin GR, McDermid H, Emanuel BS. The role of cytologic NOR variants in the etiology of trisomy 21. *Am J Hum Genet* 1989; 44: 631-638.

- <sup>28</sup> Serra A, Bova R. Acrocentric chromosome double NOR is not a risk factor for Down syndrome. *Am J Med Genet* 1990; 7: 169-174.
- <sup>29</sup> Griffin DK. The incidence, origin, and etiology of aneuploidy. *Int Rev Cytol* 1996; 167: 263-269.
- <sup>30</sup> Pinto D, Ceballos JM, Castillo I, Canto J. Full mosaic monosomy 22 in a child with DiGeorge syndrome facial appearance. *Am J Med Genet* 1998; 76: 150-153.
- <sup>31</sup> Zelante I, Notarangelo A, Croce AI, Piemontese MR, Gasparini P. Cytogenetic and molecular analysis of trisomy 9. Case report and review. *Ann Genet* 1994; 37: 21-25.
- <sup>32</sup> Roberts DJ, Sandstrom MM, Van Praagh S. Characteristic of structural heart defects in trisomy 9 and their relationship to those in trisomy 13, 18 y 21. *Am Heart J* 1993; 125: 1681-1690.
- <sup>33</sup> Feret MA, Galan F, Aguilar MS, Serrano JL, Cidras M, García R. Full trisomy 22 in a malformed newborn female. *Ann Genet* 1991; 34: 44-46.
- <sup>34</sup> Phillipson J, Benirschke K, Bogart M. Two live-born infants with trisomy 22. *Pediatr Pathol* 1990; 10: 1001-1005.
- <sup>35</sup> Turleau C, de Grouchy J, Cabanis MO, Nihoul C, Dufier JL. Trisomy 7. Internal intersexuality (masculine uterus) and severe abnormality of the anterior chamber of the eye. *Ann Genet* 1984; 27: 115-117.
- <sup>36</sup> Park JP, Moeschler JB, Rawnsley E, Berg SZ, Wurster-Hill DH. Trisomy 20 mosaicism confirmed in a phenotypically normal liveborn. *Prenat Diagn* 1989; 9: 501-504.
- <sup>37</sup> Pflueger SM, Scott CI Jr, Moore CM. Trisomy 7 and Potter syndrome. *Clin Genet* 1984; 25: 543-548.
- <sup>38</sup> Eichenlaub-Ritter U. Parental age-related aneuploidy in human germ cells and offspring: A story of past and present. *Env Mol Mut* 1996; 28:211-236.
- <sup>39</sup> Guttenbach M, Engel W, Schmid M. Analysis of structural and numerical chromosome abnormalities in sperm of normal men and carriers of constitutional chromosome aberrations. A review. *Hum Genet* 1997; 100: 1-21.
- <sup>40</sup> Zaragoza MV, Jacobs PA, James RS, Rogan P, Sherman S, Hassold T. Nondisjunction of human acrocentric chromosomes: studies of 432 trisomic fetuses and liveborns. *Hum Genet* 1994; 94: 411-417.
- <sup>41</sup> Nicolaidis P, Petersen MB. Origin and mechanisms of non-disjunction in human autosomal trisomies. *Hum Reprod* 1998; 13:313-319.
- <sup>42</sup> Jacobs PA, Hassold TJ, Whittington, Butler G, Collyer S, Keston M, Lee M. Klinefelter's syndrome: an analysis of the origin of the additional sex chromosome using molecular probes. *Ann Hum Genet* 1988; 52: 93-109.
- <sup>43</sup> Lorda I, Binkert F, Maechler M, Robinson WP, Schinzel AA. Reduced recombination and paternal age effect in Klinefelter syndrome. *Hum Genet* 1992; 89: 524-530.
- <sup>44</sup> Mathur A, Stekol L, Schatz D, MacLaren NK, Scott ML, Lippe B. The parental origin of the single X chromosome in Turner syndrome: lack of correlation with parental age or clinical phenotype. *Am J Hum Genet* 1991; 48: 682-686.
- <sup>45</sup> Martin RH, Rademaker AW. The effect of age on the frequency of sperm chromosomal abnormalities in normal men. *Am J Hum Genet* 1987; 41: 484-492.
- <sup>46</sup> Griffin DK, Abruzzo MA, Millie EA, Sheean LA, Feingold E, Sherman SL, Hassold TJ. Non-disjunction in human sperm: evidence for an effect of increasing paternal age. *Hum Mol Genet* 1995; 4: 2227-2232.
- <sup>47</sup> Robbins WA, Baulch JE, Moore D, Weier HU, Blakey D, Wyrobek AJ. Three-probe fluorescence *in situ* hybridization to assess chromosome X, Y, and aneuploidy in sperm of 14 men from two healthy groups: evidence for a paternal age effect on sperm aneuploidy. *Reprod Fertil Dev* 1995; 7: 799-809.
- <sup>48</sup> Carothers AD, Filippi G. Klinefelter's syndrome in Sardinia and Scotland. *Hum Genet* 1988; 81: 71-75.
- <sup>49</sup> Hatch M, Kline J, Levin B, Hutzler M, Warburton D. Paternal age and trisomy among spontaneous abortions. *Hum Genet* 1990; 85: 355-361.
- <sup>50</sup> Wyrobek AJ, Aardema M, Eichenlaub-Ritter U, Ferguson L, Marchetti F. Mechanism and targets involved in maternal and paternal age effects on numerical aneuploidy. *Environ Mol Mutagen* 1996; 28: 254-264.
- <sup>51</sup> Warburton D. De novo balanced chromosome rearrangement and extra marker chromosomes identified at prenatal diagnosis: clinical significance and distribution of break points. *Am J Hum Genet* 1991; 49: 995-1013.
- <sup>52</sup> Villa A, Rodríguez-Martínez L. Portadores de alteraciones cromosómicas balanceadas con fenotipo anómalo. *Boletín del ECEMC. Rev Dismorfol Epidemiol* 1998; IV: 21-27.
- <sup>53</sup> Veld PA, Weber RF, Los FJ, den Hollander N, Dhont M, Pieters MH, Van Hemel JO. Two cases of Robertsonian translocations in oligozoospermic males and their consequences for pregnancies induced by intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 1997; 12: 1642-1644.
- <sup>54</sup> Rousseaux S, Chevret E, Monteil M, Cozzi J, Pelletier R, Delafontaine D, Sele B. Sperm nuclei analysis of a robertsonian t(14q21q) carrier, by FISH, using three plasmids and two YAC probes. *Hum Genet* 1995; 96: 655-660.
- <sup>55</sup> Sasagawa I, Nakada T, Terada T, Katayama T. Robertsonian translocation associated with azoospermia. *Urol Int* 1989; 44: 379-380.



- <sup>56</sup> Sasagawa I, Nakada T, Ishigooka M, Hashimoto T, Izumiya K, Adachi Y. An azoospermic male with reciprocal translocation t(3;4)(p21;q21). *Urol Int* 1992; 48: 425-427.
- <sup>57</sup> Antinolo G, Borrego S, Fernández L, Sánchez J. Translocation t(1;5)(q21;p13) in a male with azoospermia. *Acta Urol Esp* 1989; 13: 465-466.
- <sup>58</sup> López-Gines C, Gil R, Gregori M, Pellin A. An azoospermic male with reciprocal translocation t(1;15)(q11;p11). *Hum Genet* 1987; 77: 294.
- <sup>59</sup> Abeliovich D, Potoshnik G, Dar H, Lugasi N, Rave D. Chromosomal rearrangements in three infertile men. *Andrologia* 1986; 18:147-151.
- <sup>60</sup> Chandley AC, Speed RM, McBeath S, Hargreave TB. A human 9;20 reciprocal translocation associated with male infertility analyzed at prophase and metaphase I meiosis. *Cytogenet Cell Genet* 1986; 41: 145-153.
- <sup>61</sup> Warburton D. Risk of phenotypic abnormalities in paracentric inversion carriers. *Am J Med Genet* 1997; 69: 219.
- <sup>62</sup> Lindgren V. Genomic imprinting in disorders of growth. *Endocr Metab Clin North Am* 1996; 25: 503-521.
- <sup>63</sup> Oriordan S, Greenough A, Moore GE, Bennett P, Nicolaides KH. Case Report: uniparental disomy 16 in association with congenital heart disease. *Prenat Diagn* 1996; 16: 963-965.
- <sup>64</sup> Zaslav AL, Blumenthal D, Fox JE, Thomson KA, Segreaves R, Weinstein ME. A rare inherited euchromatic heteromorphism on chromosome 1. *Prenat Diagn* 1993; 13: 569-573.
- <sup>65</sup> Bortotto L, Piovan E, Furlan R, Rivera H, Zuffardi O. Chromosome imbalance, normal phenotype, and imprinting. *J Med Genet* 1990; 27: 582-587.
- <sup>66</sup> Jalal SM, Kukolich MK, García M, Day DW. Euchromatic 9q+ heteromorphism in a family. *Am J Med Genet* 1990; 37: 155-156.
- <sup>67</sup> Webb GC, Krumins EJ, Eichenbaum SZ, Voullaire LE, Earle E, Choo KH. Non C-banding variants in some normal families might be homogeneously staining regions. *Hum Genet* 1989; 82: 59-62.
- <sup>68</sup> Rivera H, Turleau C, de Grochy J, Junien C, Despoisse S, Zucker JM. Retinoblastoma del (13q14). Report of two patients, one with a trisomic sib due to a maternal insertion. Gene dosage effect for esterase D. *Hum Genet* 1981; 59: 211-214.
- <sup>69</sup> Stallard R, Van Dyke D. Familial duplications of proximal 15q in normal individuals. *Am J Hum Genet* 1986; 39: 133 A.
- <sup>70</sup> Brookwell R, Velaba A. Proximal 15q variant with normal phenotype in three unrelated individuals. *Clin Genet* 1987; 31: 311-314.
- <sup>71</sup> Bryke CR, Breg WR, Potluri VR, Yang-Feng TL. Duplication of euchromatin without phenotypic effect: a variant of chromosome 16. *Am J Med Genet* 1990; 36: 43-44.
- <sup>72</sup> Pinel I, Bustamante AD, Urioste M, Felix V, Ureta A, Martinez-Frias ML. An unusual variant of chromosome 16; *Hum Genet* 1988; 80: 194.
- <sup>73</sup> Thompson PW, Roberts SH. A new variant of chromosome 16. *Hum Genet* 1987; 76: 100-101.
- <sup>74</sup> Jalal SM, Schneider NR, Kukolich MK, Wilson GN. Euchromatic 16p+ heteromorphism: first report in North America 1990; 37: 548-550.
- <sup>75</sup> Wolff DJ, Raffel LJ, Ferre MM, Schwartz S. Prenatal ascertainment of an inherited dup(18p) associated with apparently normal phenotype. *Am J Med Genet* 1991; 41: 319-321.
- <sup>76</sup> Moreno García M, Barreiro E. Impronta genómica. *An Esp Pediatr* 1998; 48: 567-574.
- <sup>77</sup> Barber JCK. Euchromatic heteromorphism or duplication without phenotypic effect?. *Prenat Diagn* 1994; 14: 323-324.
- <sup>78</sup> Overhauser J, Golbus MS, Schonberg SA, Wasmuth JJ. Molecular analysis of an unbalanced deletion of the short arm of chromosome 5 that produces no phenotype. *Am J Hum Genet* 1986; 39: 1-10.
- <sup>79</sup> Couturier J, Morchon-Delvallez N, Dutrillaux B. Deletion of band 13q21 is compatible with normal phenotype. *Hum Genet* 1985; 70: 87-91.
- <sup>80</sup> Barber JCK, Mahl H, Portch J, Crawford MD'A. Interstitial deletions without phenotypic effect: prenatal diagnosis of a new family and brief review. *Prenat Diagn* 1991; 11: 411-416.
- <sup>81</sup> Witt DR, Lew SP, Mann J. Heritable deletion of band 16q21 with normal phenotype: relationship to late replicating DNA. *Am J Hum Genet* 1988; 43 (Suppl): A127.
- <sup>82</sup> Lamb J, Wilkie AO, Harris PC, Buckle VJ, Lindenbaum RH, Barton NJ, Reeders ST, Weatherall DJ. Detection of break points in submicroscopic chromosomal translocation, illustrating an important mechanism for genetic disease. *Lancet* 1989; 2: 819-824.
- <sup>83</sup> Ledbetter DH. Minireview: Cryptic translocations and telomere integrity. *Am J Hum Genet* 1992; 51: 451-456.
- <sup>84</sup> Masuno M, Imaizumi K, Nakamura M, Matsui K, Goto A, Kuroki Y. Miller-Dieker syndrome due to a maternal cryptic translocation t(10;17)(q26.3;p13.3). *Am J Med Genet* 1995; 59: 441-443.

- <sup>85</sup> Gravholt CH, Friedrich U. Molecular cytogenetic study of supernumerary marker chromosomes in an unselected group of children. *Am J Med Genet* 1995; 56: 106-111.
- <sup>86</sup> Webb T, Hardy CA, King M, Watkiss E, Mitchell C, Cole T. A clinical, cytogenetic and molecular study of ten probands with supernumerary inv dup(15) marker chromosomes. *Clin Genet* 1998; 53: 34-43.
- <sup>87</sup> Flejter WL, Bennett-Baker PE, Ghaziuddin M, McDonald M, Sheldon S, Gorski JL. Cytogenetic and molecular analysis of inv dup(15) chromosomes observed in two patients with autistic disorder and mental retardation. *Am J Med Genet* 1996; 61: 182-187.
- <sup>88</sup> Ohpheim KE, Brittingham A, Chapman D, Norwood TH. Balanced reciprocal translocation mosaicism : How frequent?. *Am J Med Genet* 1995; 57: 601-604.
- <sup>89</sup> Kleczkowska A, Fryns JP, Van den Berghe H. On the variable effect of mosaic normal/balanced chromosomal rearrangements in man. *J Med Genet* 1990; 27: 505-507.
- <sup>90</sup> Hook EB, Cross EK. Rates of mutant and inherited structural cytogenetic abnormalities detected at amniocentesis: results on about 63.000 fetuses. *Ann Hum Genet* 1987; 51: 27-55.
- <sup>91</sup> Hsu LYF, Tu MT, Richkind KE, Van Dyke DL, Crandall BF, Saxe DF, Khodr GS, Mennuti M, Stetten G, Miller WA, Priest JH. Incidence and significance of chromosome mosaicism involving an autosomal structural abnormality diagnosed prenatally through amniocentesis: A collaborative study. *Prenat Diagn* 1996; 16: 1-28.
- <sup>92</sup> Leegte B, Sikkema-Raddatz B, Hordijk R, Bouman K, van Essen T, Castedo S, Jong B. Three cases of mosaicism for balanced reciprocal translocations. *Am J Med Genet* 1998; 79: 362-365.
- <sup>93</sup> Graham DA, Jewitt MM, Fitzgerald PH. Trisomy 18 mosaicism with complete peripheral lymphocyte trisomy and normal intelligence. *Clin Genet* 1992; 41: 36-38.
- <sup>94</sup> English CJ, Goodship JA, Jackson A, Lowry M, Wolstenholme J. Trisomy 12 mosaicism in a 7 year old girl with dysmorphic features and normal mental development. *J Med Genet* 1994; 31: 253-254.
- <sup>95</sup> Costa T, Lambert M, Teshima I, Ray PN, Richer CL, Dallaire L. Monozygotic twins 45,X/46,XY mosaicism discordant for phenotypic sex. *Am J Med Genet* 1998; 75: 40-44.
- <sup>96</sup> Fujimoto A, Boelter WD, Sparke RS, Lin MS, Battersby K. Monozygotic twins of discordant sex both 45,X/46,X,idic(Y) mosaicism. *Am J Med Genet* 1991; 41: 239-245.
- <sup>97</sup> Vachvanichsanong P, Jinorose U, Sangnuachua P. Trisomy 14 mosaicism in a 5 year old boy. *Am J Med Genet* 1991; 40: 80-83.
- <sup>98</sup> Thomas IT, Frias JL, Cantu ES, Lafer CZ, Flannery DB, Graham JG Jr. Association of pigmentary anomalies with chromosomal and genetic mosaicism and chimerism. *Am J Hum Genet* 1989; 45: 193-205.
- <sup>99</sup> Moreno-García M, Martín-Ramos ML, Barreiro E. Anemia de Fanconi. *Sangre* 1999; 44: 55-64.
- <sup>100</sup> Auerbach AD, Rogatko A, Schroeder-Kunhn TM. International Fanconi Anemia Registry: relation of clinical symptoms to diepoxybutane sensitivity. *Blood* 1989; 73: 391-396.
- <sup>101</sup> Hecht CA, Hook E. Rates of Down syndrome at livebirth by one-year maternal age intervals in studies with apparent close to complete ascertainment in populations. *Am J Med Genetics* 1996; 62: 376-385.
- <sup>102</sup> Down syndrome: characterisation of a case with partial trisomy of chromosome 21 owing to a paternal balanced translocation (15; 21)(q26;q22.1) by FISH. *J Med Genet* 1997; 34: 50-54.
- <sup>103</sup> Bartsch O, Hinkel GK, Petersen MB, Koning U, Bugge M, Mikkelsen M, Avramopoulos D, Morris M, Antonarakis SE. *Hum Genet* 1997; 100: 669-675.
- <sup>104</sup> Freeman SB, Tafl LF, Dooley KJ, Allran K, Sherman SL, Hassold TJ, Khoury MJ, Saker DM. Population-based study of congenital heart defects in Down syndrome. *Am J Med Genet* 1998; 80: 213-217.
- <sup>105</sup> Smith A, Field B, Learoyd BM. Trisomy 18 at age 21 years. *Am J Med Genet* 1989; 34: 338-339.
- <sup>106</sup> Sarigol SS, Rogers DG. Trisomy 18 mosaicism in a thirteen-year-old girl with normal intelligence, delayed pubertal development, and growth failure. *Am J Med Genet* 1994; 50: 94-95.
- <sup>107</sup> Buyse ML. Birth defects encyclopedia. Center for birth defects information services, Inc USA. pp 368-369.
- <sup>108</sup> Delatycki M, Gardner RJ. Three cases of trisomy 13 mosaicism and review of the literature. *Clin Genet* 1997; 51: 403-407.
- <sup>109</sup> Thompon P. Wolf-Hirschorn syndrome. Review of literature and three cases studies. *J Am Pediatr Assoc* 1998; 88: 192-197.
- <sup>110</sup> Abramsky L, Chapple J. 47,XXY (Klinefelter syndrome) and 47,XYY: estimated rates of and indication for postnatal diagnosis with implications for prenatal counselling. *Prenat Diagn* 1997; 17: 363-368.
- <sup>111</sup> Thompson MW, McInnes RR, Willard HF. Cromosomas sexuales y sus anomalías. En: *Genética en Medicina*. 4ª Edición. 1996. Ed: Mason SA. Pag: 219-233.
- <sup>112</sup> Yoshida A, Miura K, Nagao K, Hara H, Ishii N, Shirai M. Sexual function and clinical features of patients with Klinefelter's syndrome with the chief complaint of male infertility. *Int J Androl* 1997; 20: 80-85.

- <sup>113</sup> Mark HF, Feldman D, Sigman M. Conventional and molecular cytogenetic identification of a variant Klinefelter syndrome patients with a deleted X chromosome. *Pathobiology* 1999; 67: 55-58.
- <sup>114</sup> Smyth CM, Bremner WJ. Klinefelter syndrome. *Arch Intern Med* 1998; 158: 1309-1314.
- <sup>115</sup> Gicquel C, Gaston V, Cabrol S, Le Bouc Y. Assessment of Turner's syndrome by molecular analysis of the X chromosome in growth-retarded girls. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 1472-1476.
- <sup>116</sup> Ellison JW, Wardak Z, Young MF, Gehron-Robey P, Laig-Webster M, Chiong W. PHOG, a candidate gene for involvement in the short stature of Turner syndrome. *Hum Mol Genet* 1997; 6: 1341-1347.
- <sup>117</sup> Villa A. Variantes citogenéticas encontradas en pacientes con el síndrome de Turner: relación cariotipo-fenotipo. *Boletín del ECEMC. Rev Dismorfol Epidemiol* 1998; IV: 17-23.
- <sup>118</sup> Geerkens C, Just W, Held KR, Vogel W. Ullrich-Turner syndrome is not caused by haploinsufficiency of RPS4X. *Hum Genet* 1996; 97: 39-44.
- <sup>119</sup> Patsalis PC, Hadjimarco MI, Velissariou V, Kitsiou S, Zera C, Syrrou M, Lyberatou E, Tsezou A, Galla A, Skordis N. Supernumerary marker chromosomes (SMCs) in Turner syndrome are mostly derived from the Y chromosome. *Clin Genet* 1997; 51: 184-190.
- <sup>120</sup> Kleczkowska A, Dmoch E, Kubien E, Fryns JP, Van den Berghe H. Cytogenetic finding in a consecutive series of 478 patients with Turner syndrome. The Leuven experience 1965-1989. *Genet Couns* 1990; 1: 227-233.
- <sup>121</sup> Pasquino AM, Passeri F, Pucarelli I, Segni M, Municchi G. Spontaneous pubertal development in Turner's syndrome. Italian Study group for Turner's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 1810-1813.
- <sup>122</sup> Held KR, Kerber S, Kaminsky E, Singh S, Goetz P, Seemnova E, Goedde HW. Mosaicism in 45,X Turner syndrome: does survival in early pregnancy depend on the presence of two sex chromosomes?. *Hum Genet* 1992; 88: 288-294.
- <sup>123</sup> Fernández R, Méndez J, Pásaro E. Turner syndrome: a study of chromosomal mosaicism. *Hum Genet* 1996; 98: 29-35.
- <sup>124</sup> Page DC. Y chromosome sequences in Turner's syndrome and risk of gonadoblastoma or virilization. *The Lancet* 1994; 343: 240.
- <sup>125</sup> Patsalis PC, Sismani C, Hadjimarco MI, Kitsiou S, Tsezou A, Hadjiathanasiou CG, Velissariou V, Lymberatou E, Moschonas NK, Skordis N. Detection and incidence of cryptic Y chromosome sequences in Turner syndrome patients. *Clin Genet* 1998; 53: 249-257.
- <sup>126</sup> Larsen T, Gravholt CH, Tillebeck A, Larsen H, Jensen MB, Nielsen J, Friederich U. Parental origin of the X chromosome, X chromosome mosaicism and screening for "hidden" Y chromosome in 45,X Turner syndrome ascertained cytogenetically. *Clin Genet* 1995; 48: 6-11.
- <sup>127</sup> Yorifuji T, Muroi J, Kawai M, Sasaki H, Momoi T, Furusho K. PCR-based detection of mosaicism in Turner syndrome patients. *Hum Genet* 1997; 99: 62-65.
- <sup>128</sup> Ruibal JL, Sánchez-Burón P, Piñero E, Bueno G, Reverte F. Síndrome de Turner. Relación entre sus cariotipos y las malformaciones y algunos procesos asociados. *An Esp Pediatr* 1997; 47: 167-171.
- <sup>129</sup> Lippe B, Geffner ME, Dietrich RB, Boechat MI, Kangaroo H. Renal malformations in patients with Turner syndrome: imaging in 141 patients. *Pediatrics* 1988; 82: 852-856.
- <sup>130</sup> Gotzsche CO, Krag-Olsen B, Nielsen J, Sorensen KE, Kristensen BO. Prevalence of cardiovascular malformations and association with karyotypes in Turner's syndrome. *Arch Dis Child* 1994; 71: 433-436.
- <sup>131</sup> Couceiro JA, Pérez R, Fuster M, Barreiro J, Pombo M. Síndrome de Turner y malformaciones cardíacas. *An Esp Pediatr* 1996; 44: 242-244.
- <sup>132</sup> Vázquez J, Fernández Toral J, Martín Muñiz C, Salmerón M, Roca A, de la Fuente P. El síndrome de Turner: Crecimiento, estudios hormonales y otros aspectos. *An Esp Pediatr* 1997; 46: 357-361.
- <sup>133</sup> Van Dyke DL, Wiktor A, Palmer CG, Miller DA, Witt M, Babu VR, Worsham MJ, Roberson JR, Weiss L. Ullrich-Turner syndrome with a small ring X chromosome and presence of mental retardation. *Am J Med Genet* 1992; 43: 996-1005.
- <sup>134</sup> Cole H, Huang B, Salbert BA, Brown J, Howard PN, Black SH, Dorfmann A, Febles OR, Stevens CA, Jackson-Cook C. Mental retardation and Ullrich-Turner syndrome in cases with 45,X/46,X,+mar: additional support for the loss of the X-inactivation center hypothesis. *Am J Med Genet* 1994; 52: 136-145.
- <sup>135</sup> Yorifuji T, Muroi J, Kawai M, Uematsu A, Sasaki H, Momoi T, Kaji M, Yamanaka C, Furusho K. Uniparental and functional X disomy in Turner syndrome patients with unexplained mental retardation and X derived marker chromosomes. *J Med Genet* 1998; 35: 539-544.
- <sup>136</sup> Therman E, Susman B. The similarity of phenotypic effects caused by Xp and Xq deletions in the human female: a hypothesis. *Hum Genet* 1990; 85: 175-183.
- <sup>137</sup> Wilson JD, George F, Griffin JE. The hormonal control of sexual development. *Science* 1981; 211: 1278-1284.
- <sup>138</sup> Goodfellow PN, Lovell-Badge R. SRY and sex determination in mammals. *Ann Rev Genet* 1993; 27: 71-92.

- <sup>139</sup> Shanske A, Sachmechi I, Patel DK, Bishnoi A, Rosner F. An adult 49,XXXXY karyotype: Case report and endocrine studies. *Am J Med Genet* 1998; 80: 103-106.
- <sup>140</sup> Hsu LYF. Phenotype/Karyotype correlations of Y chromosome aneuploidy with emphasis on structural aberrations in postnatally diagnosed cases. *Am J Med Genet* 1994; 53: 108-140.
- <sup>141</sup> James RS, Coppin B, Dalton P, Dennis NR, Mitchell C, Sharp AJ, Skuse DH, Thomas NS, Jacobs PA. A study of females with deletions of the short arm of the X chromosome. *Hum Genet* 1998; 102: 507-516.
- <sup>142</sup> Rao E, Weiss B, Fukami M, Rump A, Niesler B, Mertz A, Muroya K, Binder G, Kirsch S, Winkelmann M, Nordsiek G, Heinrich Ubreuning MH, Ranke MB, Rosenthal A, Ogata T, Rappold GA. Pseudoautosomal deletions encompassing a novel homebox gene cause growth failure in idiopathic short stature and Turner syndrome. *Nat Genet* 1997; 16: 54-62.
- <sup>143</sup> Maraschio P, Tupler R, Barbierato L, Dainotti E, Larizza D, Bernardi F, Hoeller H, Garau A, Tiepolo L. An analysis of Xq deletions. *Hum Genet* 1996; 97: 375-381.
- <sup>144</sup> Therman E, Susman B. The similarity of phenotypic effects caused by Xp and Xq deletions in the human female: a hypothesis. *Hum Genet* 1990; 85: 175-183.
- <sup>145</sup> Geerkens C, Just W, Vogel W. Deletions of Xq and growth deficit: a review. *Am J Med Genet* 1994; 50: 105-113.
- <sup>146</sup> Bardoni B, Zanaria E, Guioli S, Floridia G, Worley KC, Tonini G, Ferrante E, Chiumello G, McCabe ER, Fraccaro M et al. A dosage sensitive locus at chromosome Xp21 is involved in male to female sex reversal. *Nature Genet* 1994; 7: 497-501.
- <sup>147</sup> Baumstark A, Barbi G, Djalali M, Geerkens C, Mitulla B, Mattfeldt T, de Almeida JC, Vargas FR, Llerena Jr JC, Vogel W, Just W. Xp duplications with and without sex reversal. *Hum Genet* 1996; 97: 79-86.
- <sup>148</sup> Willard HF. X chromosome inactivation and X-linked mental retardation. *Am J Med Genet* 1996; 64:21-26.
- <sup>149</sup> Tuck-Muller CM, Martinez JE, Batista DA, Kearns WG, Wertelecki W. Duplication of the short arm of the X chromosome in mother and daughter. *Hum Genet* 1993; 91: 395-400.
- <sup>150</sup> Burd L, Vesely B, Martsolf J, Kerbeshian J. Prevalence study of Prader-Willi syndrome in North Dakota. *Am J Med Genet* 1990; 37: 97-99.
- <sup>151</sup> Petersen MB, Brondum-Nielsen K, Hansen LK, Wulff K. Clinical, cytogenetic, and molecular diagnosis of Angelman syndrome: Estimated prevalence rate in Danish country. *Am J Med Genet* 1995; 60:261-262.
- <sup>152</sup> Knoll JHM, Nicholls RD, Magenis RE, Graham JM, Lalande M, Latt SA. Angelman and Prader-Willi syndromes share a common chromosome15 deletion but differ in parental origin of the deletion. *Am J Med Genet* 1989; 32: 285-290.
- <sup>153</sup> Deal CL. Parental genomic imprinting. *Curr Opin Pediatr* 1995; 7: 445-458.
- <sup>154</sup> Glenn CC, Driscoll DJ, Yang TP, Nicholl RD. Genomic imprinting: potential function and mechanism revealed by the Prader-Willi and Angelman syndromes. *Mol Hum Reprod* 1997; 3: 321-332.
- <sup>155</sup> Mascari MJ, Gottlieb W, Rogan PK, Butler MG, Waller DA, Armour JA, Jeffreys AJ, Ladda RL, Nicholls RD. The frequency of uniparental disomy in Prader-Willi syndrome: implications for molecular diagnosis. *N Engl J Med* 1992; 326:1599-1607.
- <sup>156</sup> Slater HR, Vaux C, Pertile M, Burgues T, Petrovic V. Prenatal diagnosis of Prader-Willi syndrome using PW71 methylation analysis-uniparental disomy and the significance of residual trisomy 15. *Prenat Diag* 1997; 17:109-113.
- <sup>157</sup> Knoll JHM, Glatt KA, Nicholls RD, Malcolm S, Lalande M. Chromosome 15 uniparental disomy is not frequent in Angelman syndrome. *Am J Hum Genet* 1991; 48: 16-21.
- <sup>158</sup> Driscoll DJ, Fildbradt M, Glenn CC, Gray SM, Blaydes RD, Nicholls EW et al. Distribution of genotypic classes in Angelman syndrome. *Am J Hum Genet* 1995; Suppl 55: A238.
- <sup>159</sup> Baumer A, Balmer D, Schinzel A. Screening for UBE3A gene mutation in a group of Angelman syndrome patients selected according to non-stringent clinical criteria. *Hum Genet* 1999; 105:598-602.
- <sup>160</sup> Smeets DFCM, Hamel BCJ, Nelen MR, Smeets HJM, Bollen JHM, Smits APT et al. Prader-Willi syndrome and Angelman syndrome in cousins from a family with a translocation between chromosome 6 and 15. *N Engl J Med* 1992; 326: 807-811.
- <sup>161</sup> Abeliovich D, Dagan J, Lerer Y, Silberstein S, Katznelson MB, Frydman M. t(15;21)(q15;q22.1)pat resulting in partial trisomy and partial monosomy of chromosomes 15 and 21 in two offspring. *Am J Med Genet* 1996; 66: 45-51.
- <sup>162</sup> Greger V, Knoll JH, Wagstaff J, Woolf E, Lieske P, Glatt H, Benn PA et al. Angelman syndrome associated with an inversion of chromosome 15q11.2q24.3. *Am J Hum Genet* 1997; 60: 574-580.
- <sup>163</sup> Sun Y, Nicholls RD, Butler MG, Saitoh S, Hainline BE, Palmer CG. Breakage in the SNRPN locus in a balanced 46,XY,t(15;19) Prader-Willi syndrome patients. *Hum Mol Genet* 1996; 5: 517-524.
- <sup>164</sup> Rinchik EEM, Bultman SJ, Horsthemke B, Lee ST, Strunk KM, Spritz RA, Avidano KM, et al. A gene for the mouse pink-eyed dilution locus and for human type II oculocutaneous albinism. *Nature* 1993; 361:72-76.

- <sup>165</sup>Guerrini R, De Lorey P, Bonanni P, Moncla C, Dravet C, Suisse G et al. Cortical myoclonus in Angelman syndrome. *Ann Neurol* 1996; 40: 39-48.
- <sup>166</sup>Moreno-García M, Barreiro E Síndromes de microdelección I: S. de Prader-Willi y de Angelman. *Acta Pediatr Esp* 1999; 57: 300-308.
- <sup>167</sup>Greenberg F. Williams syndrome professional symposium. *Am J Med Genet* 1990; 6 (Suppl): 85-88.
- <sup>168</sup>Mari A, Amati F, Mingarelli R, Giannotti A, Sebastio G, Colloridi V et al. Analysis of the elastin gene in 60 patients with clinical diagnosis of Williams syndrome. *Hum Genet* 1995; 96: 444-448.
- <sup>169</sup>Lowery MC, Morris CA, Ewart A, Brothman LJ, Zhu XL, Leonard JC et al. Strong correlation of elastin deletions, detected by FISH, with Williams syndrome: evaluation of 235 patients. *Am J Hum Genet* 1995; 57: 49-53.
- <sup>170</sup>Pérez Juado LA, Peoples R, Kaplan P, Hamel BC, Francke U. Molecular definition of the chromosome 7 deletion in Williams syndrome and parent-of-origin effects on growth. *Am J Hum Genet* 1996; 59: 781-792.
- <sup>171</sup>Pankau R, Partsch CJ, Gosch A, Opperman HC, Wessel A. Statural growth in Williams-Beuren syndrome. *Eur J Pediatr* 1992; 151: 751-755.
- <sup>172</sup>Jordán J, Fullana A, Ortiz P, Pérez V. Síndrome de Beuren-Williams: estudio de 20 casos. *An Esp Pediatr* 1986; 24: 291-297.
- <sup>173</sup>Holmstrom G, Almond G, Temple K, Baraitser M. The iris in Williams syndrome. *Arch Dis Child* 1990; 65: 987-989.
- <sup>174</sup>Gosch A, Pankau R. Social emotional and behavioral adjustment in children with Williams-Beuren syndrome. *Am J Med Genet* 1994; 53: 335-339.
- <sup>175</sup>Plissart L, Borghgraef M, Volcke P, Van den Berghe H, Fryns JP. Adults with Williams-Beuren syndrome: evaluation of the medical, psychological and behavioral aspects. *Clin Genet* 1994; 46: 161-167.
- <sup>176</sup>Pober BR, Lacro RV, Rice C, Mandell V, Teele RL. Renal findings in 40 individuals with Williams syndrome. *Am J Med Genet* 1993; 46: 271-274.
- <sup>177</sup>Curran ME, Atkinson DL, Ewart AK, Morris CA, Leppert MF, Keating MT. The elastin gene is disrupted by a translocation associated with supravalvular aortic stenosis. *Cell* 1993; 73: 159-168.
- <sup>178</sup>Morris CA, Loker J, Ensing G, Stock AD. Supravalvular aortic stenosis cosegregates with a familial 6;7 translocation which disrupts the elastin gene. *Am J Med Genet* 1993; 46: 737-744.
- <sup>179</sup>Moreno-García M, Barreiro E Síndromes de microdelección (II): Williams, CATCH-22, Langer-Giedion, Smith-Magenis y retinoblastoma. *Acta Pediatr Esp* 1999; 57: 354-363.
- <sup>180</sup>Driscoll DA, Budarf ML, Emanuel BS. A genetic etiology for DiGeorge syndrome: consistent deletions and microdeletions of 22q11. *Am J Hum Genet* 1992; 50:924-933.
- <sup>181</sup>Kelly D, Goldberg R, Wilson D, et al. Confirmation that the velo-cardio-facial syndrome is associated with haploinsufficiency of genes at chromosome 22. *Am J Med Genet* 1993;45: 308-312.
- <sup>182</sup>Emanuel BS, Budarf ML, Sellinger B, Goldmuntz E, Driscoll DA. Detection of microdeletions of 22q11.2 with fluorescence in situ hybridization (FISH): diagnosis of DiGeorge syndrome (DGS), velo-cardio-facial (VCF) syndrome, CHARGE association and conotruncal cardiac malformation. *Am J Hum Genet* 1992; 51: A3.
- <sup>183</sup>Goodship J, Cross I, LiLing J, Wren C. A population study of chromosome 22q11 deletions in infancy. *Arch Dis Child* 1998; 79: 348-351.
- <sup>184</sup>Trainer AH, Morrison N, Dunlop A, Wilson N, Tolmie J. Chromosome 22q11 microdeletions in tetralogy of Fallot. *Arch Dis Child* 1996; 74: 62-63.
- <sup>185</sup>Wilson DI, Britton SB, McKeown C, Kelly D, Cross IE, Strobel S, Scambler PJ. Noonan's and Digeorge syndromes with monosomy 22q11. *Arch Dis Child* 1993; 68: 187-189.
- <sup>186</sup>Bawle EV, Conard J, Van Dyke DL, Czarnecki P, Driscoll DA. Seven cases of Cayler cardiofacial syndrome with chromosome 22q11.2 deletion, including a familial case. *Am J Med Genet* 1998; 79: 406-410.
- <sup>187</sup>Rauch A, Hofbeck M, Bähring S, Leipold G, Trautmann U, Singer H, Pfeiffer RA. Monozygotic twins concordant for Cayler syndrome. *Am J Med Genet* 1998; 75: 113-117.
- <sup>188</sup>Stewart TL, Irons MB, Cowan JM, Bianchi DW. Increased incidence of renal anomalies in patients with chromosome 22q11 microdeletion. *Teratology* 1999; 59: 20-22.
- <sup>189</sup>Devriendt K, Swllen A, Fryns JP, Proesmans W, Gewilling M. Renal and urogenital tract malformations caused by a 22q11 deletion. *J Med Genet* 1996; 33: 349.
- <sup>190</sup>Sugama S, Namihiro T, Matsioka R, Taira N, Eto Y, Maekawa K. Psychiatric patients and chromosome deletions within 22q11.2. *J Neurol Neurosurg Psych* 1999; 67: 803-806.
- <sup>191</sup>Ryan AK, Goodship JA, Wilson DI, Philip N, Levy A, Seidel H et al. Spectrum of clinical features associated with interstitial chromosome 22q11 deletions: a European collaborative study. *J Med Genet* 1997; 34: 798-804.
- <sup>192</sup>Wilson DI, Cross IE, Goodship JA, Brown J, Scambler PJ, Bain HH, Tayler JF, Walsh K, Bankier A, Burn J et al. A prospective cytogenetic study of 36 cases of DiGeorge syndrome. *Am J Hum Genet* 1992; 51: 957-963.

- <sup>193</sup> Driscoll DA, Spinner NB, Budarf ML, McDonald-McGinn DM, Zackai EH, Goldberg RB, Shprintzen RJ, Sall HM, Zonana J, Jones MC, et al. Deletions and microdeletions of 22q11.2 in velo-cardio-facial syndrome. *Am J Med Genet* 1992; 44: 261-268.
- <sup>194</sup> Crifasi PA, Michels VV, Driscoll DJ, Jalal SM, Dewald GW. DNA fluorescent probes for diagnosis of velocardiofacial and related syndromes. *Mayo Clin Proc* 1995; 70: 1148-1153.
- <sup>195</sup> Franke UC, Scambler PJ, Loffler C, Lons P, Hanefeld F, Zoll B, Hansmann I. Interstitial deletion of 22q11 in DiGeorge syndrome detected by high resolution and molecular analysis. *Clin Genet* 1994; 46: 187-192.
- <sup>196</sup> Desmaze C, Scambler P, Prieur M, Halford S, Sidi D, Le Deist F, Aurias A. Routine diagnosis of DiGeorge syndrome by fluorescence in situ hybridization. *Hum Genet* 1993; 90: 663-665.
- <sup>197</sup> Driscoll DA, Salvin J, Sellinger B, Budarf ML, McDonald DM, Zackai EH, Emanuel S. Prevalence of 22q11 microdeletions in DiGeorge and velocardiofacial syndromes: implications for genetic counselling and prenatal diagnosis. *J Med Genet* 1993; 30: 813-817.
- <sup>198</sup> Carey AH, Kelly D, Halford S. Molecular genetic study of the frequency of monosomy 22q11 in DiGeorge syndrome. *Am J Hum Genet* 1992; 51: 964-970.
- <sup>199</sup> Larson RS, Butler MG. Use of fluorescence in situ hybridization (FISH) in the diagnosis of DiGeorge sequence and related diseases. *Diagn Mol Pathol* 1995; 4: 274-278.
- <sup>200</sup> Goldmuntz E, Driscoll D, Budarf EH, Zackai EH, McDonald DM, Biegel JA, Emanuel BS. Microdeletions of chromosomal region 22q11 in patients with congenital conotruncal cardiac defects. *J Med Genet* 1993; 30: 807-812.
- <sup>201</sup> Buhler EM. Langer-Giedion syndrome and 8q- deletion. *Am J Med Genet* 1987; 31: 273-275.
- <sup>202</sup> Hou J, Parish J, Ludecke HJ, Sapru M, Wang Y, Chen W et al. A 4-megabase YAC contig that spans the Langer-Giedion syndrome region on human chromosome 8q24.1: use in redefining the localization of the trichorhinophalangeal syndrome and multiple exostoses gene (TRPS1 and EXT1). *Genomics* 1995; 29: 87-97.
- <sup>203</sup> Okuno T, Inoue A, Asakura T, Nakao S. Langer-Giedion syndrome with del 8(q24.13-q24.22). *Clin Genet* 1987; 32: 40-45.
- <sup>204</sup> Ludecke HJ, Wagner MJ, Nardmann J, La Pillo B, Parrish JE, Willems PJ et al. Molecular dissection of a contiguous gene syndrome. *Hum Mol Genet* 1995; 4: 31-36.
- <sup>205</sup> Ludecke HJ, Hohnson C, Wagner MJ, Wells DE, Turleau C, Tommerup N et al. Molecular definition of the shortest region of deletion overlap in the Langer-Giedion syndrome. *Am J Hum Genet* 1991; 49: 1197-1206.
- <sup>206</sup> Greenberg F, Smith ACM, Ritcher S, Magenis E, Guzzetta V, Patel PI et al. Smith Magenis syndrome (deletion 17p11.2) as a new contiguous gene deletions syndrome. *Am J Hum Genet* 1990; 47: A59.
- <sup>207</sup> Moncla A, Livet MO, Auger M, Mattei JF, Mattei MG, Giraud F. Smith-Magenis syndrome: a new contiguous gene syndrome: report of three new cases. *J Med Genet* 1991; 28: 627-632.
- <sup>208</sup> Trask BJ, Mefford H, van den Engh G, Massa HF, Juyal RC, Potocki L et al. Quantification by flow cytometry of chromosome-17 deletions in Smith-Magenis syndrome patients. *Hum Genet* 1996; 98: 710-718.
- <sup>209</sup> Greenberg F, Lewis RA, Potocki L, Glaze D, Parke J, Killian J et al. Multi-disciplinary clinical study of Smith-Magenis syndrome (deletion 17p11.2). *Am J Med Genet* 1996; 62: 247-254.
- <sup>210</sup> Juyal RC, Greenberg F, Mengden GA, Lupski JR, Trask BJ, van den Engh G et al. Smith-Magenis syndrome deletion: a case with equivocal cytogenetic findings resolved by fluorescence in situ hybridization. *Am J Med Genet* 1995; 58: 286-291.
- <sup>211</sup> Koyama K, Fukushima Y, Inazawa J, Tomotsune D, Takahashi N, Nakamura Y. The human homologue of the murine Llg1h gene (LLGL) maps within the Smith-Magenis syndrome region in 17p11.2. *Cytogenet Cell Genet* 1996; 72: 78-82.
- <sup>212</sup> Horsthemke B. Genetics and cytogenetics of Retinoblastoma. *Cancer Genet Cytogenet* 1992; 63: 1-7.
- <sup>213</sup> Ribeiro MCD, Andrade JAD, Erwenner CM, Brunoni D. Bilateral retinoblastoma associated with 13q- mosaicism. *Cancer Genet Cytogenet* 1988; 32: 169-175.
- <sup>214</sup> Turleau C, de Grouchy J, Chavin F, Junien C, Séger P, Schlienger P et al. Cytogenetic forms of retinoblastoma. Their incidence in a survey of 66 patients. *Cancer Genet Cytogenet* 1985; 16: 321-334.
- <sup>215</sup> Fukushima Y, Kuroki Y, Ito T, Kondo L, Nishigaki I. Familial retinoblastoma (mother and son) with 13q14 deletion. *Hum Genet* 1987; 77: 104-107.
- <sup>216</sup> Moreno-García M, Sánchez del Pozo J, Fernández FJ, Moreno A, Barreiro E. Síndrome de WAGR. A propósito de un caso. *An Esp Pediatr* 1998; 49: 381-387.
- <sup>217</sup> Martínez-Mora J, Audi L, Toran N, Isnar R, Casteliu A, Iribinae MP, Egozcue J. Ambiguous genitalia, gonadoblastoma, aniridia and mental retardation with deletion of chromosome 11. *J Urol* 1989; 142: 1298-1300.
- <sup>218</sup> Puissant H, Azoulay M, Serre JL, Piet L, Junien C. Molecular analysis of a reciprocal translocation t(5;11)(q11;p13) in a WAGR patient. *Hum Genet* 1988; 79: 280-282.

- <sup>219</sup>Pettenati MJ, Weaver RG, Burton BK. Translocation of t(5;11)(q13.1;p13) associated with familial isolated aniridia. *Am J Med Genet* 1989; 34: 230-232.
- <sup>220</sup>Crolla JA, Cawdery JE, Oley CA, Young ID, Gray J, Fantes J, van Heyningen V. A FISH approach to defining the extent and possible clinical significance of deletions at the WAGR locus. *J Med Genet* 1997; 34: 207-212.
- <sup>221</sup>Moreno García M, Barreiro E. Síndromes de microdelección (III). WAGR, Beckwith-Wiedemann, Miller Dieker y Rubinstein-Taybi. *Acta Pediatr Esp* 1999; 57: 405-413.
- <sup>222</sup>Mannens M, Alders M, Redeker B, Blik J, Steenman M, Wiesmeyer C et al. Positional cloning of genes involved in the Beckwith-Wiedemann syndrome, hemihypertrophy, and associated childhood tumors. *Med Pediatr Oncol* 1996; 27: 490-494.
- <sup>223</sup>Arroyo I, Barrio AR, Cimadevilla CE, Bermejo E, Martínez-Frías ML. Síndrome de Wiedemann-Beckwith. *Boletín del ECEMC. Rev Dismorfol Epidemiol* 1997; 2: 9-19.
- <sup>224</sup>Mouton C, Junien C, Henry I, Bonaiti C. Beckwith-Wiedemann syndrome: a demonstration of the mechanisms responsible for the excess of transmitting females. *J Med Genet* 1992; 29: 217-220.
- <sup>225</sup>Hoovers JM, Kalikin LM, Johnson LA, Alders M, Redeker B, Law DJ et al. Multiple genetic loci within 11p15 defined by Beckwith-Wiedemann syndrome rearrangement breakpoint and subchromosomal transferable fragments. *Proc Natl Acad Sci* 1995; 92: 12456-12460.
- <sup>226</sup>Hatada I, Inazawa J, Abe T, Nakayama M, Kaneko Y, Jinno Y et al. Genomic imprinting of human p57<sup>KIP2</sup> and its reduced expression in Wilms tumors. *Hum Mol Genet* 1996; 5:783-788.
- <sup>227</sup>Catchpoole D, Lam WW, Valler D, Temple IK, Joyce JA, Reik W, Schofield PN, Maher ER. Epigenetic modification and uniparental inheritance of H19 in Beckwith-Wiedemann syndrome. *J Med Genet* 1997; 34: 353-359.
- <sup>228</sup>Brown KW, Gardner A, Williams JC, Mott MG, McDermott A, Maitland NJ. Paternal origin of 11p15 duplications in the Beckwith-Wiedemann syndrome: A new case and review of the literature. *Cancer Genet Cytogenet* 1992; 58: 66-70.
- <sup>229</sup>Drut RM, Drut R. Nonimmune fetal hydrops and placentomegaly: diagnosis of familial Wiedemann-Beckwith syndrome with trisomy 11p15 using FISH. *Am J Med Genet* 1996; 62: 145-149.
- <sup>230</sup>Weksberg R, Teshima Y, Williams BRG, Greenberg CR, Pueschel SM, Chernos JE et al. Molecular characterization of cytogenetic alterations associated with the Beckwith-Wiedemann syndrome (BWS) phenotype refines the localization and suggests the gene for BWS is imprinted. *Hum Mol Genet* 1993; 5: 549-556.
- <sup>231</sup>Brown KW, Vilar AJ, Bickmore W, Clayton J, Catchpoole D, Maher ER, Reik W. Imprinting mutation in the Beckwith-Wiedemann syndrome leads to biallelic IGF2 expression through an H19-independent pathway. *Hum Mol Genet* 1996; 5: 2027-2032.
- <sup>232</sup>Chong SS, Lo Nigro C, Roschke AV, Tanigami A, Pack SD, Smith ACM et al. Point mutation and an intragenic deletion in three LIS patients confirm LIS1 as the lissencephaly causative gene in isolated lissencephaly sequence and Miller-Dieker syndrome. *Am J Hum Genet* 1996; 59 (Suppl): A23.
- <sup>233</sup>Pilz DT, Dalton A, Long A, Jaspan EL, Malthy EL, Quarrell OW. Detecting deletions in the critical region for lissencephaly on 17p13.3 using fluorescent in situ hybridisation and PCR assay identifying a dinucleotide repeat polymorphism. *J Med Genet* 1995; 32: 275-278.
- <sup>234</sup>Ledbetter SA, Kuwano A, Dobyns WB, Ledbetter DH. Microdeletions of chromosome 17p13 as a cause of isolated lissencephaly. *Am J Hum Genet* 1992; 50: 182-189.
- <sup>235</sup>Sharief N, Craze J, Summers D, Butler L, Wood CBS. Miller-Dieker syndrome with ring chromosome 17. *Arch Dis Child* 1991; 66: 710-712.
- <sup>236</sup>Dobyns WB, Reiner O, Carozzo R, Ledbetter DH. Lissencephaly. A human brain malformation associated with deletion of the LIS1 gene located at chromosome 17p13. *JAMA* 1993; 270: 2838-2842.
- <sup>237</sup>Kinstong HM, Ledbetter DH, Tomlin PI, Gaunt KL. Miller Dieker syndrome resulting from rearrangement of a familial chromosome 17 inversion detected by fluorescence in situ hybridisation. *J Med Genet* 1996; 33: 69-72.
- <sup>238</sup>Olson DP, Koening RJ. Thyroid function in Rubinstein-Taybi syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 3264-3266.
- <sup>239</sup>Wallerstein R, Anderson CE, Hay B, Gupta P, Gibas L, Ansari K et al. Submicroscopic deletions at 16p13.3 in Rubinstein-Taybi syndrome: frequency and clinical manifestations in North American population. *J Med Genet* 1997; 34: 203-206.
- <sup>240</sup>Imaizumi K, Kuroki Y. Rubinstein Taybi syndrome with de novo reciprocal translocation t(2;16)(p13.3;p13.3). *Am J Med Genet* 1991; 38: 636-639.
- <sup>241</sup>Tommerup N, van der Hagen CB, Heiberg A. Tentative assignment of a locus for Rubinstein Taybi syndrome to 16p13.3 a de novo reciprocal translocation, t(7;17)(q34;p13.3). *Am J Med Genet* 1992; 44: 237-241.
- <sup>242</sup>Lacombe D, Saura R, Taine L, Battin J. Confirmation of assignment of a locus for Rubinstein-Taybi syndrome gene to 16p13.3. *Am J Med Genet* 1992; 44:126-128.

- <sup>243</sup> Weissörtel R, Strom TM, Dörr HG, Rauch A, Meitinger T. Analysis of an interstitial deletion in a patient with Kallmann syndrome, X-linked ichthyosis and mental retardation. *Clin Genet* 1998; 54: 45-51.
- <sup>244</sup> Legouis R, Cohen-Salmon M, Del Castillo, Petit C. Isolation and characterization of the gene responsible for the X chromosome-linked Kallmann syndrome. *Biomed Pharmacother* 1994; 48: 241-246.
- <sup>245</sup> Ramos FJ, Olivares JL, Bueno M. Síndromes de los genes contiguos. *An Esp Ped* 1996; 82 (Supl):25-29.
- <sup>246</sup> Crow YJ, Tolmie JL. Recurrence risk in mental retardation. *J Med Genet* 1998; 35: 177-182.
- <sup>247</sup> Ramos FJ. Deficiencia mental de origen genético. *An Esp Pediatr* 1997; 47: 121-125.
- <sup>248</sup> Bregman JD, Hodapp RM. Current developments in the understanding of mental retardation. Part I: Biological and phenomenological perspectives. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 1991; 30: 707-719.
- <sup>249</sup> Patsalis PC, Sismani C, Hadjimarcou MI, Rose N, Stylianidou G, Koukoulli R, Anastasiadou V, Deltas CC, Middleton L. Cytogenetic and fragile X molecular testing of individuals with mental retardation of unknown etiology. *Genet Couns* 1997; 8:1-6.
- <sup>250</sup> Zhang S, Xie T, Tang Y, Zhang S, Xu Y. The prevalence of chromosome diseases in general population of Sichuan China. *Clin Genet* 1991; 39: 81-88.
- <sup>251</sup> Félix TM, Leite JCL, Maluf SW, Coelho JC. A genetic diagnostic survey in a population of 202 mentally retarded institutionalized patients in the south of Brazil. *Clin Genet* 1998; 54: 219-223.
- <sup>252</sup> Ghaffari SR, Boy E, Tolmie JL, Crow YJ, Trainer AH, Connor JM. A new strategy for cryptic telomeric translocation screening in patients with idiopathic mental retardation. *J Med Genet* 1998; 35: 225-233.
- <sup>253</sup> Flint J, Wikie AOM, Buckle VJ, Winter RM, Holland AJ, McDermid HE. The detection of subtelomeric chromosomal rearrangements in idiopathic mental retardation. *Nat Genet* 1995; 9: 132-140.
- <sup>254</sup> Bermejo E, Martínez-Frias ML. Vigilancia epidemiológica de anomalías congénitas. *Boletín del ECEMC. Rev Dismorfol Epidemiol* 1998; IV:37-116.
- <sup>255</sup> Feit LR. Genetics of congenital heart disease: strategies. *Adv Pediatr* 1998; 45: 267-292.
- <sup>256</sup> Buskens E, Grobbee DE, Frohn-Mulder IM, Wladimiroff JW, Hess J. Aspects of the aetiology of congenital heart disease. *Eur Heart J* 1995; 16: 584-587.
- <sup>257</sup> Hoffman JL. Congenital heart diseases: incidence and inheritance. *Pediatr Clin North Am* 1990; 37: 25-43.
- <sup>258</sup> Carmi R, Boughman JA, Ferencz C. Endocardial cushion defect: further studies of "isolated" versus "syndromic" occurrence. *Am J Med Genet* 1992; 43:569-575.
- <sup>259</sup> Ryan AK, Goodship JA, Wilson DI, Philip N, Levy A, Seidel H, Schuffenhauer S et al. Spectrum of clinical features associated with interstitial chromosome 22q11 deletions: a european collaborative study. *J Med Genet* 1997; 34: 798-804.
- <sup>260</sup> Couceiro JA, Pérez R, Fuster M, Barreiro J, Pombo M. Síndrome de Turner y malformaciones cardíacas. *An Esp Pediatr* 1996; 44: 242-244.
- <sup>261</sup> Veitia R, Nunes M, Brauner R et al. Deletions of distal 9p associated with 46,XY male to female sex reversal: definition of the breakpoints at 9p23.3-p24.1. *Genomics* 1997; 41: 271-274.
- <sup>262</sup> Bennett CP, Docherty Z, Robb SA, Ramani P, Hawkins JR, Grant D. Deletion 9p and sex reversal. *J Med Genet* 1993; 30: 518-520.
- <sup>263</sup> Fryns JP, Kleczowska A, Casaer P, Van Den Bergh H. Double autosomal chromosomal aberration (3p trisomy and 9p monosomy) and sex reversal. *Ann Genet* 1986; 29: 49-52.
- <sup>264</sup> Jotterand M, Juillard E. A new case of trisomy for the distal part of 13q due to maternal translocation (9;13)(p21;q21). *Hum Genet* 1976; 33: 213-222.
- <sup>265</sup> Flejter WL, Fergestad J, Gorski J, Varvill T, Chandrasekharappa S. A gene involved in XY sex reversal is located on chromosome 9, distal to marker D9S1779. *Am J Hum Genet* 1998; 63: 794-802.
- <sup>266</sup> Nicholl RM, Grimsley L, Butler L, Palmer RW, Rees HC, Savage MO, Costeloe K. Trisomy 22 and intersex. *Arch Dis Fetal Neonatal Ed.* 1994; 71: F57-F58.
- <sup>267</sup> Wilkie AOM, Campbell FM, Daubeney P, Grant DB, Daniels RJ, Mullarkey M, Affara NA, Fitchett M, Huson SM. Complete and partial XY sex reversal associated with terminal deletion of 10q: report of 2 cases and literature review. *Am J Med Genet* 1993; 46: 597-600.
- <sup>268</sup> Filippi G. Klinefelter's syndrome in Sardinia. Clinical report of 265 hypogonadic males detected at the time of military check-up. *Clin Genet* 1986; 30: 276-284.
- <sup>269</sup> Opitz O, Zoll B, Hansmann I, Hinney B. Cytogenetic investigation of 103 patients with primary or secondary amenorrhea. *Hum Genet* 1983; 65: 46-47.
- <sup>270</sup> Temocin K, Vardar MA, Suleymanova D, Ozer E, Tanriverdi N, Demirhan O, Kadayifci O. Results of cytogenetic investigation in adolescent patients with primary or secondary amenorrhea. *J Pediatr Adolesc Gynecol* 1997; 10: 86-88.
- <sup>271</sup> Chryssikopoulos A, Grigoriou O. The etiology in 77 primary amenorrhea patients. *Int J Fertil* 1987; 32: 245-249.



- <sup>272</sup> Brent RL, Beckman DA. The contribution of environmental teratogens to embryonic and fetal loss. *Clin Obst Gynecol* 1994; 37: 646-670.
- <sup>273</sup> Wolstenholme J, Burn J. The application of cytogenetic investigations to clinical practice. En: *Human Cytogenetics. A practical approach. Volume I. Constitutional analysis.* 2<sup>a</sup> Ed. Rooney DE, Czepulkowski BH Editores. 1992. Pag: 119-156.
- <sup>274</sup> Warburton D, Kinney A. Chromosomal differences in susceptibility to meiotic aneuploidy. *Env Mol Mut* 1996; 28: 237-247.
- <sup>275</sup> Mau UA, Bäckert IT, Kaiser P, Kiesel L. Chromosomal findings in 150 couples referred for genetic counselling prior to intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reproduction* 1997; 12: 930-937.
- <sup>276</sup> Girardi SK, Mielnik A, Schlegel PN. Submicroscopic deletions in the Y chromosome of infertile men. *Hum Reprod* 1997; 12: 1635-1641.
- <sup>277</sup> Kim SW, Kim KD, Paick JS. Microdeletions within the azoospermia factor subregions of the Y chromosome in patients with idiopathic azoospermia. *Fertil Steril* 1999; 349-353.
- <sup>278</sup> Meschede D, Horst J. The molecular genetics of male infertility. *Mol Hum Reprod* 1997; 3: 419-430.
- <sup>279</sup> Gündüz G, Luleci G, Baykara M. Cytogenetic study in 102 infertile men. *Urol Int* 1998; 61: 32-34.
- <sup>280</sup> Matsuda T, Nonomura M, Okada K, Hayashi K, Yoshida O. Cytogenetic survey of subfertile males in Japan. *Urol Int* 1989; 44: 194-197.
- <sup>281</sup> Navsaria D, Mathews T, Conte RA, Verma RS. Chromosomal anomalies in 1.000 children referred with suspected genetic disorders. *Hum Hered* 1993; 43: 137-140.
- <sup>282</sup> Rizzo N, Pittalis MC, Pilu G, Orsini LF, Perolo A, Bovicelli L. Prenatal karyotyping in malformed fetuses. *Prenat Diag* 1990; 10: 17-23.
- <sup>283</sup> Van Zalen-Sprock MM, Van Vugt JMG, Karsdorp HM, Maas R, Van Geijn HP. Ultrasound diagnosis of fetal abnormalities and cytogenetic evaluation. *Prenat Diag* 1991; 11: 655-660.
- <sup>284</sup> Huether CA, Martin RL, Stoppelman SM, D'Souza S, Bishop JK, Torfs CP, Lorey F, May KM, Hanna JS, Baird PA, Kelly JC. Sex ratio in fetuses and liveborn infants with autosomal aneuploidy. *Am J Med Genet* 1996; 63: 492-500.
- <sup>285</sup> Twan EJ, Earl R. The frequencies of constitutional chromosome abnormalities in an apparently normal adult population. *Mutat Res* 1992; 238: 69-73.
- <sup>286</sup> Schreppers GA, Curfs LM, Wiegers A, Kleczkowska A, Fryns JP. A systematic cytogenetic study of a population of 1170 mentally retarded and/or behaviourally disturbed patients including fragile X-screening. The Hondsberg experience. *J Genet Hum* 1988; 36:425-446.
- <sup>287</sup> Op't Hof J, Venter PA, Du Toit JL, Gericke GG, Dawson B, Coetzee DJ, Mienie LJ, Marais CH, Reinecke CJ. A multidisciplinary diagnostic/genetic study on the 105 patients with mental retardation of the E.S. Le Grange School. *J Ment Defic Res* 1985; 29: 37-47.
- <sup>288</sup> Goodman BK, Praphanphoj V, Hamosh A, Semenza GL, Raymond GV, Thomas GH. Subtle subtelomeric abnormalities defined using high-resolution cytogenetics and FISH with selected telomere probes: five new cases involving 7 telomeres. *Cytogenet Cell Genetics* 1999; 85 (A94):28.
- <sup>289</sup> Ferencz C, Neill CA, Boughman JA, Rubin JD, Brenner JJ, Perry LW. Congenital cardiovascular malformations associated with chromosome abnormalities: an epidemiological study. *J Pediatr* 1989; 114: 79-86.
- <sup>290</sup> Tolarova MM, Cervenka J. Classification and birth prevalence of orofacial clefts. *Am J Med Genet* 1998; 75: 126-137.
- <sup>291</sup> Stoll C, Alembik Y, Dott B, Roth MP. Epidemiological and genetic study in 207 cases of oral clefts in Alsace, north-eastern France. *J Med Genet* 1991; 28:325-329.
- <sup>292</sup> Sasagawa I, Nakada T, Ishigooka M, Sawamura T, Adachi Y, Hashimoto T. Chromosomal anomalies in cryptorchidism. *Int Urol Nephrol* 1996; 28: 99-102.
- <sup>293</sup> Sasagawa I, Nakada T, Ishigooka M, Tomaru M, Sawamura T, Tateno T. Cryptorchidism and marker chromosomes: identification of marker chromosome by fluorescence in situ hybridization. *Urol Int* 1995; 55: 25-28.
- <sup>294</sup> Yamaguchi T, Kitada S, Osada Y. Chromosomal anomalies in cryptorchidism and hypospadias. *Urol Int* 1991; 47: 60-3.
- <sup>295</sup> Al-Mutair A, Iqbal MA, Ashwal A, Sakati N. Clinical, endocrine and Cytogenetic study of 141 paediatric patients with ambiguous genitalia. *Am J Hum Genet* 1999; A156,
- <sup>296</sup> Castilla EE, Lugarinho da Fonseca, Dutra MG, Bermejo E, Cuevas L, Martínez-Frías ML. Epidemiological analysis of rare polydactylies. *Am J Med Genet* 1996; 65: 295-303.
- <sup>297</sup> Sher ES, Migeon CJ, Brekowitz GD. Evaluation of boys with marked breast development at puberty. *Clin Pediatr* 1998; 37: 367-371.

- <sup>298</sup> Prasad AN, Prasad C, Stafstrom CE. Recent advances in the genetics of epilepsy: insight from human and animal studies. *Epilepsia* 1999; 40: 1329-1352.
- <sup>299</sup> Palencia R. Estado actual de la genética de las epilepsias. *Rev Neurol* 1997; 25: S339-S349.
- <sup>300</sup> Battaglia A, Gurrieri F, Bellacosa A, Pamponi MG, Paravatous M, Mazza S, Neri G. The inv dup(15) syndrome: a clinically recognizable syndrome with altered behavior, mental retardation, and epilepsy. *Neurology* 1997; 48: 1081-1086.
- <sup>301</sup> Sidenvall R, Eeg-Olofsson O. Epidemiology of infantile spasms in Sweden. *Epilepsia* 1995; 36: 572-574.
- <sup>302</sup> Reijo R, Alagappan RK, Patrizio P, Page DC. Severe oligozoospermia resulting from deletions of azoospermia factor gene on Y chromosome. *Lancet* 1996; 11:1290-1293.
- <sup>303</sup> Fryns JP, Van Buggenhout G. Structural chromosome rearrangement in couples with recurrent fetal wastage. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1998; 81: 171-176.
- <sup>304</sup> Makino T, Tabuchi T, Nakada K, Iwasaki K, Tamura S, Iizuka R. Chromosomal analysis in Japanese couples with repeated spontaneous abortions. *Int J Fertil* 1990; 266-270.
- <sup>305</sup> Gravholt CH, Friedrich U, Nielsen J. Chromosomal mosaicism: a follow-up study of 39 unselected children found at birth. *Hum Genet* 1991; 88: 49-52.
- <sup>306</sup> Percy ME, Markovic VD, Dalton AJ, McLachlan DR, Berg JM, Rusk AC, Somerville MJ, Chodakowski B, Andrews DF. Age-associated chromosome 21 loss in Down syndrome: possible relevance to mosaicism and Alzheimer disease. *Am J Med Genet* 1993; 45: 584-588.
- <sup>307</sup> Devi AS, Metzger DA, Luciano AA, Benn PA. 45,X/46,XX mosaicism in patients with idiopathic premature ovarian failure. *Fertil Steril* 1998; 70: 89-93.
- <sup>308</sup> Guttenbach M, Koschorz B, Bernthaler U, Grimm T, Schmid M. Sex chromosome loss and aging: In situ hybridization studies on human interphase nuclei. *Am J Hum Genet* 1995; 57: 1143-1150.
- <sup>309</sup> Vockley J, Inserra J, Berg RW, Yang-Feng TL. Pseudomosaicism for a 4p- in amniotic fluid cell culture proven to be true mosaicism after birth. *Am J Med Genet* 1991; 39: 81-83.
- <sup>310</sup> Toncheva D, Ilieva P, Mavrudieva M. Detection of low level sex-chromosomal mosaicism. *Genet Couns* 1994; 5: 363-367.
- <sup>311</sup> Satge D, Geneix A, Goburdhun J, Lasne-Desmet P, Rosenthal C, Arnaud R, Malet P. History of miscarriages and mild prognathism as possible mode of presentation of mosaic trisomy 18 in women. *Clin Genet* 1996; 50: 470-473.
- <sup>312</sup> Peschka B, Leygraaf J, Van der Ven K, Montag M, Schartmann B, Schubert R, van der Ven H, Schwanitz G. Type and frequency of chromosomal aberrations in 781 couples undergoing intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 1999; 14: 2257-2263.
- <sup>313</sup> Uchida IA, Feeman VC. Trisomy 21 Down syndrome. Parental mosaicism. *Hum Genet* 1985; 70: 246-248.
- <sup>314</sup> Croci G, Franchi F. Parental mosaicism in de novo translocation (21q21q) Down's syndrome. *J Med Genet* 1991; 28: 502.
- <sup>315</sup> Beratis NG, Kardon NB, Hsu LYF, Grossman D, Hirschhorn K. Parental mosaicism in trisomy 18. *Pediatrics* 1972; 50: 908-911.
- <sup>316</sup> Sciorra LJ, Schlenker E, Toke D, Brady-Yasbin S, Day-Salvatore D, Lee ML. Low level mosaicism for a balanced 7;14 translocation in the father of an abnormal 7q+ child. *Am J Med Genet* 1992; 42: 296-297.
- <sup>317</sup> Jubert RC, Holliday DJ, Hennessy S. Familial sex chromosomal mosaicism. *Am J Med Genet* 1990; 37: 15-17.
- <sup>318</sup> Kosower NS, Gerad L, Goldstein M, Parasol N, Zipser Y, Ragolsky M, Rozencwaig S, et al. Constitutive heterochromatin of chromosome 1 and Duffy blood group alleles in schizophrenia. *Am J Med Genet* 1995; 60: 133-138.
- <sup>319</sup> Buretic-Tomljanovic A, Rodovinac A, Vlastelic I, Randic LJ. Quantitative analysis of constitutive heterochromatin in couples with fetal wastage. *Am J Reprod Immunol* 1997; 38: 201-204.
- <sup>320</sup> Genest P, Genest FB. The influence of the length of human Y chromosome on spontaneous abortions. A prospective study in a family line with inherited polymorphic Y chromosome. *Ann Genet* 1985; 28: 143-148.
- <sup>321</sup> Del Porto G, Dállessandro E, Grammatico P, Coghi IM, DeSanctis S, Giambenedetti M, Vaccarella C, Fabi R, Marcaino MF, Nicotra M. Chromosome heteromorphisms and early recurrent abortions. *Hum Reprod* 1993; 8: 755-758.
- <sup>322</sup> Rodríguez MT, Martín MJ, Abrisqueta JA. C-band length variability and reproductive wastage. *Hum Genet* 1987; 75: 56-61.
- <sup>323</sup> Spinner NB, Eunpu DL, Schmickel RD, Zackai EH, McEldrew D, Bunin GR, McDermid H, Emanuel BS. The role of cytologic NOR variants in the etiology of trisomy 21. *Am J Hum Genet* 1989; 44: 631-638.
- <sup>324</sup> Serra A, Bova R. Acrocentric chromosome double NOR is not a risk factor for Down syndrome. *Am J Med Genet* 1990; 7: 169-174.